TÉCNICO LISBOA



Monitorização de *Biofouling* em Condutas de Água

Selecção de Materiais que Promovem a sua Formação em Sistemas de Águas de Refrigeração

Joana de Soares Silva e Melo Mota

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Química

Orientadores: Professora Doutora Maria Diná Ramos Afonso
Doutora Ana Alexandra da Silva Pereira

Júri

Presidente: Professor Doutor José Manuel Félix Madeira Lopes
Orientador: Professora Doutora Maria Diná Ramos Afonso
Vogal: Professora Doutora Ana Paula Vieira Soares Pereira Dias

Junho de 2014

Agradecimentos

Em primeiro lugar, os meus agradecimentos vão para o Eng.º Mário Freire e Eng.º Jorge Martins, por me terem concedido a possibilidade de realizar o estágio na Enkrott Química S.A..

Agradeço também à Doutora Ana Pereira, responsável pela Investigação & Desenvolvimento da Enkrott Química S.A. e minha orientadora, por todo o acompanhamento, disponibilidade e paciência em momentos mais difíceis, também por toda a dedicação, empenho e preocupação com o conteúdo científico desta tese de mestrado.

Ao meu colega Eng.º Bruno Pereira, pelo acompanhamento directo de todo o meu trabalho, pela disponibilidade total em me passar os seus conhecimentos, pela sua paciência e boa disposição.

Ao Gonçalo Silva por me facilitar o acesso a equipamento necessário para o desenvolvimento da tese, pelas amostras que me permitiram a realização dos ensaios, pela sua paciência, sorrisos e incentivos.

À Marta Belisanda pelo carinho, preocupação e disponibilidade.

À Ana Monteiro pela amizade, sorrisos e boa disposição, pelo companheirismo e conselhos em momentos de maior tensão e também por toda a ajuda diária.

À Eng.ª Catarina Carvalho por me fazer encarar toda esta experiência com muito boa disposição, e pela insistência em me ensinar tudo o que podia.

Aos meus colegas Eng.º Pedro Reis, Eng.ª Telma Silva, Eng.º Luís Monteiro e Eng.º Fernando Pato, por todo o apoio e conselhos, e por toda a boa disposição e gargalhadas.

Aos Professores Ana Paula Vieira Soares Pereira Dias, Manuel Francisco Costa Pereira, António Manuel Álvares Serrão Maurício, Patrícia Maria Cristovam Cipriano Almeida de Carvalho, Benilde Jesus de V. Saramago, Ana Paula Serro e Auguste Rodrigues Fernandes por toda a ajuda disponibilizada, conselhos, simpatia e boa disposição.

O meu mais profundo agradecimento é para a Professora Doutora Maria Diná Ramos Afonso (Instituto Superior Técnico) por todas as horas concedidas e disponibilidade mesmo fora de horas e cuja orientação, dedicação e incansável empenho foram essenciais para alcançar o objectivo desta tese.

Finalmente, agradeço aos meus Pais, Francisco e Becas Melo Mota, à minha irmã, Mariana Melo Mota, e a todos os meus amigos, em particular à Ana Cristina Carranquinha dos Santos e Filipe Mira por sempre me apoiarem, animarem e incentivarem a dar o meu melhor, sem os quais não conseguiria ter concluído esta etapa da minha vida.

Resumo

Em sistemas de águas de refrigeração há uma série de problemas, como a corrosão e o *fouling*, que causam uma diminuição na eficiência de qualquer indústria e têm elevados custos associados.

O objectivo deste trabalho foi seleccionar materiais que favoreçam a formação de biofilme*,* para a sua detecção antecipada em tempo-real pelo *Diveil Surface Sensor* (DSS). Outro objectivo foi o desenvolvimento de *coupons* planos para a detecção antecipada do *biofouling*, em alternativa aos *biocoupons* comerciais muito dispendiosos.

Num sistema laboratorial, o DSS monitorizou a adesão de biofilme em dois tubos sensores, um em aço inoxidável e outro em cloreto de polivinilo (PVC), nos quais circulava água recolhida num sistema de refrigeração de uma indústria alimentar. Simultaneamente, foi quantificado o biofilme aderido, com *coupons* cilíndricos dos mesmos materiais simulando os tubos sensores DSS. Nos dois ensaios realizados, o tubo sensor e os *coupons* cilíndricos em aço inoxidável conduziram a resultados mais satisfatórios, i.e., amplitudes de vibração e massas de biofilme mais elevadas, respectivamente.

Relativamente aos *coupons* planos, testaram-se diferentes materiais: cobre, aço inoxidável, PVC, polietileno de alta densidade (HDPE) e neoprene. Nos ensaios, o neoprene conduziu a massas de biofilme aderido mais elevadas, no entanto o HDPE e o PVC também apresentaram respostas significativas e não sofrem corrosão.

Realizaram-se ensaios de caracterização dos materiais, nomeadamente Microscopia Electrónica de Varrimento, Tomografia Computadorizada de Raios-X, Goniometria e Porosimetria Gasosa, e concluiu-se que os factores que mais influenciam a adesão de biofilme são as tensões de corte, seguidas das rugosidades efectivas e das hidrofobicidades.

Palavras-Chave: aço inoxidável, *biofouling*, cobre, *coupons*, HDPE, PVC.

Abstract

In cooling water systems there are several problems, such as corrosion and fouling, which decrease the process efficiency and increase the costs associated, as well.

The main objective of this work consisted in the selection of materials capable of favouring the formation / removal of biofilm for its early detection in real-time by the Diveil Surface Sensor (DSS). Another goal was the development of plane coupons for the early detection of biofouling, in alternative to expensive commercial coupons.

In a lab set-up, DSS monitored the biofilm adhesion on two sensor tubes, one of stainless steel and another of polyvinyl chloride (PVC), inside which flowed water collected from a cooling system of a food industry. The biofilm adhesion was also quantified inside cylindrical coupons of the same materials and diameters to simulate DSS sensor tubes. In the two assays performed, the sensor tube and the cylindrical coupon in stainless steel led to more satisfactory results, i.e., the greatest vibration amplitude and mass of adhered biofilm, respectively.

As for the plane coupons, distinct materials were tested: copper, stainless steel, PVC, high density polyethylene (HDPE) and neoprene. In the two performed, the neoprene revealed the highest mass of adhered biofilm, although HDPE and PVC showed effective responses and are corrosion-free.

The materials characterization was performed through Scanning Electron Microscopy, X-Ray Computed Tomography, Goniometry and Gas Porosimetry, and the conclusion drawn was that the surface shear stress had a strong influence in the biofilm adhesion followed by the effective roughness and the hydrophobicity.

Key-Words: *biofouling*, copper, coupons, HDPE, PVC, stainless steel.

Índice

Índice de Figuras

Índice de Tabelas

Pág.

Lista de Abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ATP	Adenosina Trifosfato
AVAC	Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado
CIP	*Cleaning in Place*
CoC	*Cycle of Concentration*
DAQ	*Data Acquisition*
DF	Factor de Amortecimento
DSS	*Diveil Surface Sensor*
FFT	Transformada de *Fourier*
HDPE	Polietileno de Alta Densidade
PE	Polietileno
PVC	Cloreto de polivinilo
STP	*Temperatura e Pressão Normais*

Lista de Símbolos

A_{NC}	Amplitude de vibração normalizada e corrigida (V)
ε	Rugosidade absoluta (m)
ρ	Densidade (kg·m^{-3})
μ	Viscosidade (Pa·s)
τ_0	Tensão de corte (Pa)
D	Diâmetro interno (m)
R	Raio interno(m)
L_1,L_2,L_3	Dimensões dos *coupons* planos (m)
T	Temperatura (ºC)
v	Velocidade transversal média na conduta (m·s^{-1})
P	Pressão (cm Hg)
Re	Número de *Reynolds*
A_k	Área característica (m^2)
E_k	Energia cinética característica por unidade de volume (W·m^{-3})
F_k	Força característica (N)
f	Factor de atrito de *Fanning*

1. A Empresa Enkrott

A empresa F. Enkrott foi fundada em 1962 por Franz Enkrott, com sede em Lisboa. [1]

Em 1971, foi inaugurada a Delegação do Algarve, iniciando-se o processo de regionalização da empresa. Em 1990, foi inaugurada a Delegação do Porto.[1]

Em 1991, a empresa F. Enkrott, Lda. passou a sociedade anónima, nascendo a Enkrott – Gestão e Tratamento de Águas S.A.. Nesse mesmo ano, a empresa deu início à sua actividade em Angola.[1]

A companhia Enkrott – Gestão e Tratamentos de Águas S.A., abrange todos os aspectos relacionados com água, desde os pré-tratamentos (osmose inversa e filtração), aos tratamentos de águas industriais (de refrigeração, de aquecimento e águas de processo) e tratamentos de águas residuais. Integra diversas especialidades como engenharia hidráulica, automação, química e instrumentação num processo de tratamento global, o que garante elevados padrões de qualidade, assegurando a integridade do produto nas diversas fases do processo, prestando serviços no mercado de gestão e tratamento de águas de processo em Portugal, Espanha e Angola.[2]

Em 2001, como resultado de um processo de *spin-off* de um departamento da companhia Enkrott – Gestão e Tratamento de Águas S.A., a Enkrott Química S.A. iniciou a sua actividade, direccionada para mercados industriais e institucionais (venda de mercadorias e prestação de serviços pós-venda) satisfazendo globalmente as suas necessidades, com tecnologias de ponta. Com mais de 250 clientes, a empresa realiza programas de exploração, *outsourcing*, o que inclui o investimento em equipamentos, sua manutenção e operação, bem como o fornecimento de produtos químicos em contratos a longo prazo.[3]

Em 2005, beneficiando da economia, experiência e do aumento de competências, reposicionou-se, e passou a ter uma oferta global no mercado de tratamento de águas, nomeadamente estratégias de reutilização e de poupança de água, em particular em meio industrial, com impacto ambiental positivo.[3]

Em 2007, passou a prestar serviços em *outsourcing* nos seus clientes, o que motivou um investimento em competências internas na área de supervisão, automação e telemetria, aplicada aos processos geridos.[2]

Em 2008, foi criada a área Investigação & Desenvolvimento (I&D) que tem como função primária o desenvolvimento de ferramentas que permitam monitorizar os processos geridos. Em 2009, pelo seu grau de inovação, estas ferramentas passaram a ser um objectivo da empresa, criando-se um novo mercado.[2] [3]

Em 2014, a Enkrott Química S. A. fundiu-se com a Enkrott, S. A..

1.1. Missão

A empresa Enkrott Química S.A. tem diversos objectivos, todos centrados na perspectiva de redução de custos associados a processos, nomeadamente, a redução do consumo de água através de estratégias de conservação, reutilização e monitorização, minimização de paragens para manutenção, não programadas, devidas a corrosão ou *fouling* nos equipamentos do processo, e melhoramento de supervisão dos processos industriais, automatizando-os, de forma a obter-se um aumento na produtividade.[3]

Na área de Segurança e Higiene desenvolve mecanismos de controlo e desinfecção de sistemas que envolvam águas. Nas indústrias de Pasta de Papel e de Alimentação e Bebidas, implementou ferramentas em correntes de processo que originaram um impacto positivo na qualidade do produto final, com consequente redução de custos operacionais, e aumento da produtividade das indústrias.[3]

1.2. Inovação

Com a actual tendência regulamentadora e de minimização dos impactos ambientais, é essencial apostar no desenvolvimento de produtos inovadores para o mercado, em particular no âmbito do controlo de processos.[3]

A melhoria do controlo e disponibilidade imediata de informação de gestão para a tomada de decisão permite que as indústrias avaliem os seus processos, possibilitando a minimização do uso de produtos químicos bem como a redução dos consumos de água e dos custos de manutenção e operação. Na área I&D, a Enkrott S.A. tem dois projectos de desenvolvimento em curso: o Projecto Vibs e o Da-Control, ambos não intrusivos.[3]

O Projecto Vibs consiste no desenvolvimento de um sensor, usando tecnologias de vibração, que permite a detecção de vários tipos de *fouling* em correntes de água ou do produto processado. Por exemplo, o sensor pode assegurar a limpeza de uma conduta, diminuindo os tempos de limpeza.[3]

O Da-Control permite obter automaticamente e em tempo real dados sobre a concentração de um dado produto doseado em contínuo no sistema. Com a implementação desta tecnologia é possível a flexibilização da gestão dos processos, garantindo um controlo de excelência.[3]

2. Introdução

O principal foco de trabalho da Enkrott S.A. é o tratamento de águas. Os sistemas de águas de refrigeração são unidades que fazem parte das utilidades de processo, para arrefecer processos em qualquer indústria e ainda em grandes edifícios, para a sua climatização, Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC).[4]

Assim, os tratamentos e gestão de águas têm uma grande relevância na indústria, pois podem afectar o sucesso de um processo bem como o impacto que uma unidade industrial tem no ambiente. É necessário tê-los em conta quer para águas residuais quer para águas de recirculação.[4]

Em aplicações industriais, a água é utilizada devido à sua elevada capacidade de transferência de calor, tornando-a o meio favorito para este propósito e como utilidade. Na maioria dos casos, a água é usada para arrefecer um produto ou processo, de forma a manter as condições operatórias determinantes para a eficiência do processo, através do controlo da temperatura e da pressão por transferência de calor entre os fluidos quentes e a água de arrefecimento.[5]

A utilização de água como fluido de refrigeração, tem sido alvo de pesquisa, tanto do ponto de vista ambiental como pelo de preservação, e assim tem sofrido inúmeras mudanças. A título de exemplo, as águas de refrigeração que passem pelo processo uma única vez, são devolvidas a uma bacia. Neste caso, o processo apresenta duas grandes desvantagens, sendo a primeira a quantidade de água a fornecer para preencher os requisitos do processo e a segunda o calor que é fornecido à bacia receptora de água após a circulação desta pelo processo. Alternativamente, as torres de refrigeração permitem a reciclagem de água em tão grande escala que a poupança de água é de cerca de 90 % em comparação com o sistema de passagem única de água. Neste último caso, também se reduz o calor fornecido ao sistema passando este a ser fornecido ao meio envolvente da torre de refrigeração.[4]

Alterações como estas nos sistemas de águas de refrigeração, provocam alterações no *design* e operação, tendo um impacto ainda maior na química da água e na sua influência em diversos problemas, como é o caso da corrosão, incrustações e depósitos e em como estes problemas afectam a produção de uma instalação industrial através da perda de eficiência nos processos de transferência de calor, falhas de equipamento e em casos mais severos, em ambos.[4]

Na indústria química, as torres de refrigeração dos equipamentos mais comuns, pois constituem a forma mais económica de arrefecer grandes caudais de água de processo. O seu funcionamento consiste em fazer com que a água que se pretende arrefecer circule em sentido descendente e em contracorrente com uma corrente de ar, através de um leito de enchimento. A função do leito de enchimento é promover o contacto entre as duas fases. O ar pode ser aspirado em pequenas colunas, *Mechanical Draft*, (Figura 1 – 2) caso a convecção seja forçada (por um ou mais ventiladores) ou induzida. Ou pode simplesmente subir por convecção natural em grandes colunas, *Natural Draft* (Figura 1 – 1).[4][6]

Por outro lado, do ponto de vista de circulação relativa entre os caudais de água e ar, estes podem ser contracorrente ou de corrente cruzada. Se o escoamento de ar, que atravessa o fluxo descendente de água quente for perpendicular, denominam-se torres de fluxo cruzado. Se o escoamento de ar for em sentido contrário ao escoamento da água, denominam-se torres de fluxo em contracorrente.[4]

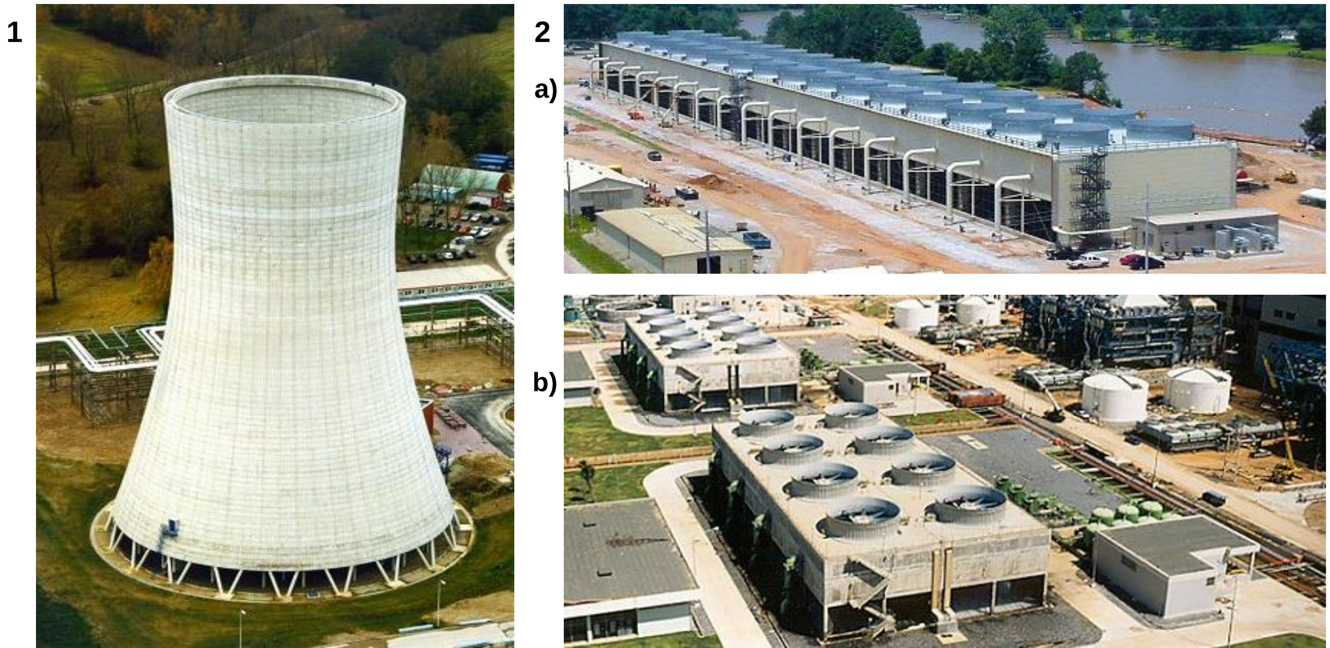


Figura 1 – Torres de refrigeração: 1 - *Natural Draft*; 2 – *Mechanical Draft* em contracorrente: a) em madeira; b) em cimento.[7]

Em torres de refrigeração de *Natural Draft* o caudal de ar e a eficiência da torre de refrigeração dependem apenas da atmosfera que rodeia a torre, estabelecendo-se a diferença de densidades entre o ar quente no interior da torre e o ar no exterior. Estas torres seguem geralmente um *design* hiperbólico de forma a minimizar as perdas de calor por acção do vento.[4]

Em convecção natural, Figura 2, não são utilizados ventiladores.[4]

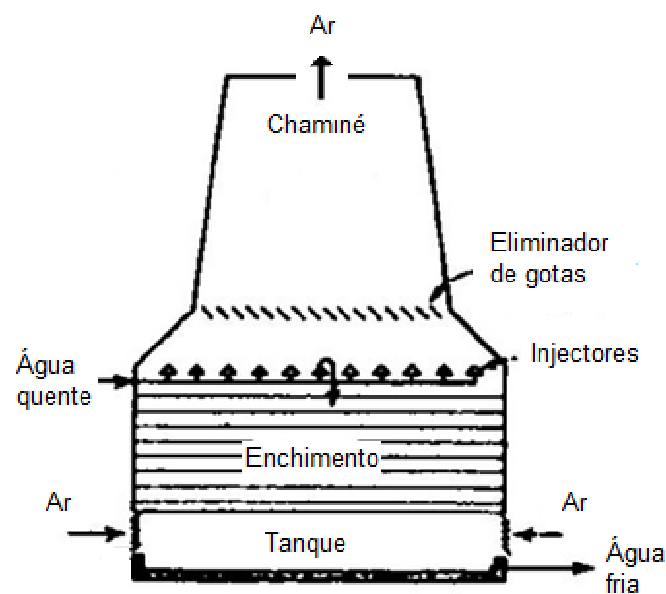


Figura 2 – *Natural Draft,* fluxo contracorrente.[8]

Em torres de refrigeração *Mechanical Draft* por convecção induzida, Figura 3, no topo da torre encontram-se ventiladores para a tiragem de ar quente, sendo este um caso de contracorrente.

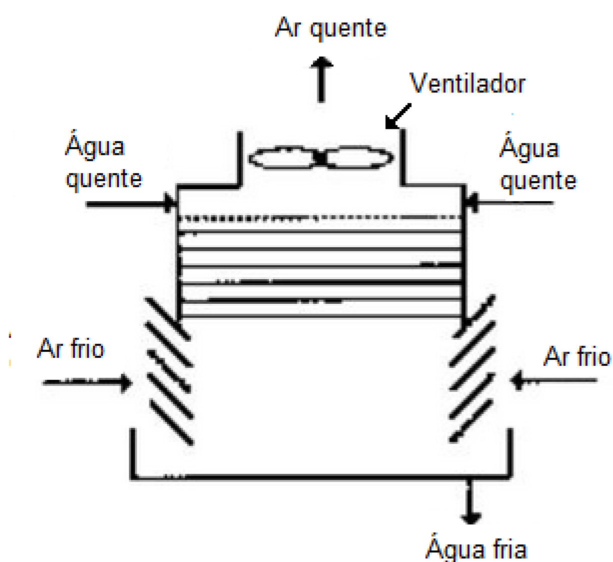


Figura 3 – *Mechanical Draft*, convecção induzida e fluxo em contracorrente.[8]

Em torres de refrigeração *Mechanical Draft* por convecção forçada, Figura 4, utilizam-se ventiladores para forçar (por insuflação ou extracção) a passagem de ar, acelerando o processo de

arrefecimento e aumentando a eficiência da torre. Estas torres conseguem evaporar uma quantidade de água superior à quantidade evaporada em torres de *Natural Draft* com o mesmo tamanho.[4]

Em insuflação de ar em corrente cruzada, ventiladores nas laterais das torres forçam a entrada de ar e a sua passagem pelo enchimento da torre até ao local onde a água é pulverizada. A água circundante atravessa o enchimento, e entra em contacto com o ar em corrente cruzada sendo recolhida numa bacia localizada na base da torre.[4]

A extracção forçada de ar pode ser tanto em corrente cruzada, com os ventiladores no topo, como em contracorrente com os ventiladores nas laterais. A escolha entre as duas é baseada em considerações de engenharia que têm em conta o estado do tempo, visto que é de evitar a recirculação de ar quente que reduziria a eficiência da torre. Por outro lado, uma torre em contracorrente tem a vantagem de a água mais fria entrar em contacto com o ar mais seco e consequentemente a evaporação ser mais eficiente.[4]

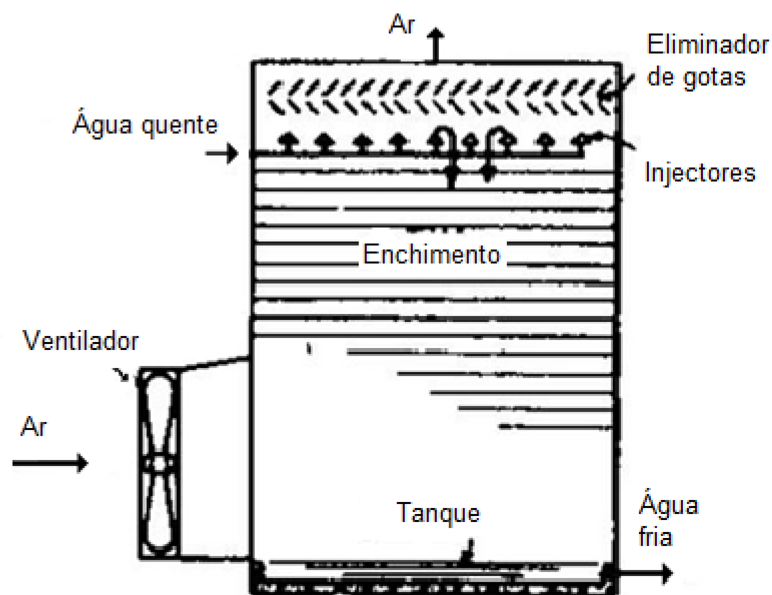


Figura 4 – *Mechanical Draft,* tiragem forçada de ar, fluxo contracorrente.[8]

No entanto, devido ao facto da água ser recirculada, e/ou estar em contacto com impurezas do ar e de edifícios vizinhos, é natural que neste processo ocorram contaminações.

2.1. Contaminações dos Sistemas de Águas de Refrigeração

A água é considerada o solvente universal. No entanto, esta propriedade em aplicações industriais nem sempre é desejada, pois pode dissolver muitas substâncias incluindo gases como o oxigénio e o dióxido de carbono, potenciando a corrosão dos metais usados nos sistemas de refrigeração. Além disso, à medida que a água dissolve minerais, a concentração destes pode exceder a sua solubilidade e dá-se a formação de incrustações, depósitos, favorecendo também as reacções de corrosão. Finalmente, na água existem nutrientes que potenciam o crescimento microbiológico, podendo gerar *biofouling* nas superfícies do sistema.[5]

Em sistemas de refrigeração, as principais contaminações da água são a corrosão, *fouling* e *biofouling*. A corrosão é função das características da água e dos metais no sistema, e causa degradação prematura dos metais, e consequentemente a formação de depósitos. O *fouling* é o resultado da deposição de sólidos em suspensão, de produtos de corrosão e de massas microbianas nas superfícies das tubagens de passagem. Pode também ser devido à deposição de precipitados de compostos, sendo o carbonato de cálcio o mais comum, que se tornam insolúveis com o aumento da temperatura. Este tipo de *fouling* denomina-se de incrustações. No caso particular deste ser devido à deposição de massas microbianas, denomina-se de *biofouling*.[4][9]

Os sistemas de águas de refrigeração podem ser sujeitos a graves contaminações provenientes da água de *make-up*. Quando estes sistemas trabalham em aberto os potenciais contaminantes são ainda mais preocupantes, pois a água contacta com o meio ambiente. Além disso, estes processos funcionam a temperaturas elevadas que promovem o aumento da concentração dos contaminantes por evaporação da água.[4]

2.1.1. Corrosão

A corrosão consiste no desgaste de um metal quando este se encontra na presença de água, ar e de outros metais. Esta destruição pode dar-se por reacção química ou electroquímica, com o meio em que o metal está inserido. A grande maioria dos materiais fabricados têm uma tendência natural para, na presença de oxigénio, regressarem ao seu estado natural, de óxido.[10]

Uma pequena flutuação do pH da água de arrefecimento pode causar um aumento no potencial de corrosão. Os sistemas de refrigeração são vulneráveis à corrosão, pois contêm uma grande variedade de metais além de que há em circulação água quente a velocidades elevadas, potenciando o processo de corrosão. Nos sistemas de águas de refrigeração em aberto há ainda a agravante do oxigénio presente no ar se encontrar em permanente contacto com a água. Numa torre de refrigeração *Mechanical Draft* com convecção forçada o ar que sai forma uma pluma, e pode eventualmente criar problemas de corrosão em estruturas nas imediações.[4]

A corrosão não controlada pode causar falhas ou mesmo destruição de equipamentos, resultando em custos de substituição e em casos extremos a uma paragem de uma unidade fabril.[4][9]

2.1.2. *Fouling*

O *fouling* consiste na adsorção de sólidos em suspensão às superfícies de equipamentos ou tubagens. Apesar de filtrada e clarificada, a água de *make-up* pode ainda conter partículas de lodo, argila, areias e outras substâncias. Além disso, sólidos em suspensão podem entrar nos sistemas de águas de refrigeração por fontes externas, uma vez que uma torre de refrigeração capta naturalmente os pós presentes na atmosfera que contaminam a água, ou internas como é o caso de produtos de corrosão.[10]

À medida que os sólidos em suspensão colidem uns com os outros, formam aglomerados que ao aderirem às superfícies aumentam a velocidade de passagem da água e as perdas de carga associadas. Se as superfícies metálicas dos permutadores de calor forem rugosas permitem que os sólidos adiram, ficando depositados no metal. Esses depósitos reduzem a eficiência de processos de arrefecimento e proporcionam locais óptimos para a ocorrência de corrosão.[4][10]

2.1.2.1 Incrustações

As incrustações em sistemas de águas de refrigeração são compostas maioritariamente por minerais inorgânicos que se encontram dissolvidos na água, tais como o silicato de magnésio, o fosfato de cálcio, o óxido de ferro e, o mais comum, o carbonato de cálcio. Se não houver um controlo das suas concentrações estes poderão precipitar e depositar-se.[9]

Factores como a concentração de minerais na água de refrigeração, a temperatura, o pH, a disponibilidade de locais para a nucleação e o tempo disponível para a precipitação ocorrer após a nucleação, afectam a formação de incrustações. A nucleação é a etapa em que as moléculas do soluto dispersas no solvente começam a aglomerar-se. Estas aglomerações constituem o núcleo e só se tornam estáveis a partir de um certo tamanho crítico, que depende das condições de operação (temperatura, supersaturação, irregularidades, etc.). Se o aglomerado não atinge a estabilidade necessária ele dissolve-se novamente. É no estágio de nucleação que os átomos se arranjam e definem a estrutura do cristal.[4][9]

Os minerais inorgânicos mais comuns em sistemas de águas de refrigeração têm a particularidade da sua solubilidade ser inversamente proporcional à temperatura, ou seja, quanto mais elevada a temperatura, mais baixa a solubilidade dando origem a precipitados. Este problema é mais crítico nas áreas de transferência de calor onde as temperaturas são bastante elevadas, mas pode estender-se a outras zonas, como as tubagens de alimentação.[10]

Este problema reduz a eficiência na transferência de calor e consequentemente, numa instalação industrial poderá reduzir a produção ou aumentar os custos de operação. Em casos extremos, se a transferência de calor atingir um valor mínimo crítico, torna-se necessária a limpeza do sistema e eventualmente a paragem da unidade. Paragens não programadas, afectam directamente o lucro de uma indústria em milhões de euros, tanto em perda de produção como em custos de manutenção.[10]

Para evitar ao máximo este problema, assim que as incrustações sejam consideradas uma possível ameaça à eficiência e à operação contínua do processo, é necessário proceder a limpezas mecânicas ou químicas.[10]

2.1.2.2 *Biofouling*

O *biofouling* é um caso particular de *fouling*, em que se adsorvem à superfície macro e microrganismos, sendo apenas relevante no caso particular dos sistemas de águas de refrigeração a adesão de microrganismos. Os sistemas de águas de refrigeração são ideais para o crescimento de microrganismos, tanto pela temperatura, pH e presença de nutrientes para se propagarem.[4]

O crescimento microbiano dá-se, preferencialmente, numa gama de temperaturas de 21 a 60 ºC, e de pH 6 a 9. Os microrganismos mais comuns e que podem causar mais danos em sistemas de águas de refrigeração são as bactérias, fungos e algas, como se encontra descrito na secção 3.1. A colonização de uma superfície e posterior crescimento de biofilme pode, em condições favoráveis, gerar a depósitos com 1 mm de espessura ou mais, se não forem tomadas medidas de prevenção. A presença deste biofilme representa uma resistência à transferência de calor, funcionando como isolador térmico.[5][10]

Para além do *biofouling* causar perdas na transferência de calor, aumenta o potencial de corrosão e *pitting*. Em qualquer dos casos, reduz a eficiência de uma torre de refrigeração com custos de operação (limpeza + manutenção) mais elevados.[5][9]

2.1.2.3 Legionella

A *legionella* é um problema muito actual. São conhecidas cerca de 47 espécies de *legionella*, sendo a *legionella pneumophila* a mais patogénica. Estas bactérias encontram-se tanto em sistemas naturais como em sistemas artificiais, nomeadamente em redes de abastecimento e distribuição de águas, em sistemas de arrefecimento (torres de refrigeração, humidificadores) e ar condicionado existentes em edifícios como hotéis, centros comerciais e hospitais. Assim como as restantes bactérias, existem factores que favorecem o seu desenvolvimento, por exemplo temperaturas entre os 20 e os 45 ºC (sendo as óptimas entre os 35 e os 45 ºC), humidades relativas elevadas, superiores

a 60%, zonas com reduzida circulação de água ou estagnação, a presença de outros microrganismos, a existência de *biofouling* nas superfícies, corrosão e/ou incrustações, e a utilização de materiais porosos.[11]

Materiais orgânicos e outros detritos podem ficar acumulados nas torres de arrefecimento, pois estes equipamentos possuem filtros de ar muito eficientes que manipulam grandes caudais de ar. Os materiais orgânicos depositados servem de fonte de nutrientes para o crescimento desta bactéria, assim como de outras.[11]

A exposição à bactéria pode causar uma infecção respiratória, conhecida por doença dos Legionários, designada assim por ter sido descoberta pela primeira vez num episódio epidémico numa conferência da Legião Americana, num hotel em Filadélfia. Transmite-se por inalação de pequenas gotículas de vapor de água contaminada, e/ou aerossol de água contaminada. As dimensões dessas gotas são tão pequenas, que a bactéria aloja-se no pulmão e consequentemente nos alvéolos pulmonares. A doença atinge preferencialmente adultos com mais de 50 anos, especialmente fumadores e portadores de doenças crónicas debilitantes, como alcoolismo, diabetes, cancro e insuficiência renal, ou imunodeprimidos, sendo raríssimos os casos em indivíduos abaixo dos 20 anos.[11]

2.2. Prevenção de Contaminações

A produção, eficácia, qualidade e custo de qualquer processo industrial pode ser afectado pelos sistemas de água de refrigeração, pois qualquer processo depende directamente da sua capacidade de refrigeração para manter as condições operatórias óptimas de pressão e temperatura, que reduzem o custo total de operação. Aumentos das perdas de carga no sistema de refrigeração ou perdas de eficiência na transferência de calor, tornam necessário fornecer energia adicional ao sistema. Na maioria dos casos, a energia fornecida é eléctrica conduzindo a um aumento dos custos de operação.[12]

Na indústria alimentar, o mau funcionamento da refrigeração influencia directamente a qualidade do produto final, pois nesta indústria utilizam-se sistemas para a refrigeração de compressores e para a climatização de câmaras frigoríficas, sendo um ponto crítico.[12]

Os problemas descritos na secção 2.1 podem ser atenuados por uma manutenção activa. Todo e qualquer equipamento deve estar em condições de limpeza de modo a que o seu funcionamento seja eficiente e as condições não sejam prejudiciais à saúde. Devem ser realizadas inspecções visuais regulares e colher amostras do sistema.[12]

2.2.1. Qualidade da Água

Em geral, o uso de águas de fonte natural sem tratamento adequado conduz a sistemas de refrigeração com uma baixa eficiência. A dimensão deste problema é tanto maior quanto pior a qualidade da água de *make-up*.[13]

A utilização de água reciclada em torres de refrigeração representa um desafio com objectivos e características que entram em conflito. Idealmente, em torres de refrigeração a água faz entre 2 a 6 ciclos de concentração (CoC), até que a água seja descarregada, atingindo concentrações de minerais entre 17 a 50 % que podem precipitar.[13]

A água reciclada tem uma conotação negativa, sendo caracterizada por elevados níveis de minerais que favorecem o crescimento de microrganismos. À medida que os ciclos de concentração aumentam, maior é a probabilidade de uma torre de refrigeração funcionar como uma incubadora promovendo o crescimento de *biofouling*. Sendo assim, são limitados os ciclos de concentração de uma água reciclada. O custo do tratamento químico da água reciclada é elevado e o volume de descarga também.[5][13]

2.2.2. Efeitos do Meio Ambiente

Em torres de refrigeração, o ar que circula na torre é que providencia as condições para a evaporação, sendo necessários cerca de 1500 m^3 de ar por m^3 de água. Não é portanto de estranhar que a atmosfera envolvente de uma torre de refrigeração tenha efeitos profundos na sua eficiência.[4]

Em algumas zonas áridas e especialmente onde as tempestades de areia são comuns, o ar contém grandes quantidades de pós e areias. Os sistemas de águas de refrigeração nestas zonas têm de ter associado um sistema de filtração em paralelo. Numa instalação industrial complexa, os sólidos em suspensão presentes nas águas podem ser provenientes do ar: de pós nas estradas, de áreas abertas entre a instalação e edifícios, ou mesmo de sólidos armazenados sem tampa (metais em bruto ou carvão), ou serem gerados no próprio sistema em forma de lama.[4]

Um problema mais complexo é a presença de gases alcalinos ou ácidos na atmosfera, os quais afectam o pH do sistema, que por sua vez influencia directamente a formação de incrustações e a tendência para a corrosão. No caso da presença de gases ácidos podem advir problemas proeminentes, sendo o dióxido de carbono o mais relevante. A quantidade de dióxido de carbono que a água consegue dissolver a 20º C é inferior a 1 mg/L. No entanto, o teor de CO_2 num dado sistema de refrigeração varia consideravelmente, dependendo do local, das condições atmosféricas, bem como da proximidade de chaminés de descarga de gases.[4]

Há uma relação estreita entre a concentração de CO_2, a alcalinidade e o pH. Se a concentração de CO_2 variar, a alcalinidade varia de forma a manter o pH no *set-point*. Não é fácil prever a alcalinidade, concentração de ácido fraco e/ou base fraca ou forte que será necessária para obter um determinado pH, tendo de se determinar empiricamente, a não ser que haja registos de experiências anteriores numa vizinhança da nova torre de refrigeração ou fortes evidências de que a concentração média de dióxido de carbono na atmosfera é de 0,03 %. Se a concentração de CO_2 for constante, é possível determinar uma alcalinidade para o pH seleccionado pois, o pH varia logaritmicamente com a alcalinidade.[4]

2.2.3. Tratamentos Químicos

Os tratamentos de águas têm como principal objectivo a (re)utilização da água de maneira eficiente, minimizando o crescimento biológico, incrustações, corrosão e *fouling*. Um tratamento de águas eficaz permite menos depósitos e uma operação mais eficiente, bem como um tempo de vida útil dos equipamentos maior, pois há uma diminuição da corrosão. Num programa de tratamento de águas, muitas vezes é necessário o controlo de incrustações e corrosão, o qual é realizado por inibidores.[4]

Para uma selecção adequada do programa de tratamento de águas é necessário um estudo meticuloso e uma grande quantidade de informação. É uma tarefa exaustiva devido à complexidade

do equipamento envolvido bem como às variações das condições operatórias. Este estudo envolve: os dados relativos ao sistema de refrigeração; a química da água de refrigeração; os dados relativos à transferência de calor; e as caracterizações dos efluentes.[4]

O objectivo da monitorização e análises de água é identificar potenciais problemas antes que estes ocorram, com recurso a ferramentas de diagnóstico, que incluem análise de águas (*on-site* e em laboratório), análise de depósitos (orgânico, inorgânico e microbiano), equipamentos de monitorização de corrosão e depósitos, análises metalográficas e análises microbianas.[4]

Em sistemas com recirculação de águas municipais, caracterizadas por elevado teor de amónia (resultante de dejectos humanos), resíduos de fosfatos dos sabonetes e detergentes, contaminantes orgânicos residuais e um elevado teor de sólidos totais dissolvidos (TDS), o tratamento químico é bastante caro, necessitando inibidores e biocidas para o controlo da corrosão e do *biofouling*. Também é necessária uma purga com razão elevada de forma a minimizar as incrustações. Problemas como o *biofouling* são a principal causa para não se utilizar água reciclada em aplicações de refrigeração evaporativa.[13]

No entanto, o uso de águas recicladas é possível. No caso particular do problema principal ser a corrosão, pode-se usar como inibidor a sílica. No entanto, se o sistema for rico em amónia é necessário outro inibidor, pois a sílica não protege os metais na presença de amónia. Recentemente, em sistemas de águas de refrigeração com elevado teor de sólidos totais dissolvidos e com um programa de tratamento para a corrosão, foram desenvolvidas novas metodologias para o controlo de *fouling* de sílica e silicatos. O potencial de corrosão é geralmente função da concentração de iões dissolvidos, como o cloro e o sulfato, e da força iónica que se acentua com a evaporação.[13]

Na Tabela 1 apresenta-se uma compilação dos tratamentos químicos a utilizar em função da contaminação a eliminar num tratamento de sistemas de águas de refrigeração.[4]

Tabela 1 – Compostos químicos para tratamentos de águas de refrigeração. [4]

Tratamento Químico	Contaminações			
	Corrosão	Incrustações inorgânicas	Depósitos orgânicos	*Biofouling*
Cromatos	x			
Zinco	x			
Molibdatos	x			
Silicatos	x			
Polifosfatos	x	x		
Poliol Ésteres		x		
Fosfanatos	x	x		
Orgânicos	x	x	x	
Orgânicos Naturais			x	
Polímeros Sintéticos		x	x	
Biocidas Não Oxidantes			x	x
Cloro/Bromo				x
Ozono				x

Um bom controlo de corrosão é muito difícil ou mesmo impossível num sistema sujo e com incrustações. Assim, um bom tratamento começa por um bom controlo de incrustações e/ou de *fouling*, para manter as superfícies limpas e minimizar a dosagem de inibidores de corrosão. Muitos compostos químicos ajudam a resolver mais do que um problema, mas a escolha para um sistema em específico depende das suas condições.[4]

No caso particular da *legionella*, utiliza-se cloro e dispersantes. No entanto, este tratamento não deve ser frequente pois é bastante corrosivo e produz fumos tóxicos.[14]

Com a actual tendência para a minimização dos impactos ambientais e especialmente em tratamentos de águas, o conceito de *"green chemistry"* é origem de grande debate e discussão. Normalmente são utilizados aditivos químicos para que não ocorram incrustações ou para minimizar a formação destas, assim como para a corrosão de superfícies e formação de *fouling* ou *biofouling.* A "química verde" desenvolve alternativas aos aditivos químicos convencionais, ambientalmente aceitáveis. A "química verde" tem como objectivo a sintetização de produtos químicos e processos que reduzam ou eliminem a utilização ou a produção de substâncias perigosas. Este lema, aplica-se à vida completa do produto a desenvolver, desde o seu *design*, síntese, uso e finalmente a sua degradação. Devem ser sintetizados de uma forma segura e eficiente e apresentar toxicidade mínima.[15][16]

Existem também em desenvolvimento novas tecnologias "verdes" como a filtração, processos de separação por membranas e a permuta iónica, que fazem um pré-tratamento à água de *make-up*, permitindo utilizar águas recicladas com elevadas concentrações de sólidos totais dissolvidos (TDS). À medida que o número de ciclos aumenta (até 50 CoC), a quantidade de sílica (inibidor de corrosão) presente na água aumenta também, eliminando a necessidade de inibidores químicos. Elevados pH e

TDS previnem o crescimento de microrganismos eliminando a necessidade de biocidas tóxicos. Sem incrustações e *biofouling*, a eficiência de um sistema de águas de refrigeração aumenta e os custos de limpeza diminuem. Para além disso, é usada uma menor quantidade de água, com um aumento dos ciclos de concentração e uma redução do número de descargas.[13]

2.3. Controlo e Monitorização de Contaminações

Em qualquer indústria o objectivo é a redução dos custos de operação, o aumento dos lucros e a qualidade do produto. Como tal, mantendo-se o rendimento da instalação, conseguir-se uma redução do consumo de água, por aumento dos ciclos de recirculação, com controlo do pH e do oxigénio dissolvido, é favorável para a redução de custos. Em suma, o sucesso de um sistema de águas de refrigeração passa por um bom sistema de controlo/monitorização.[12]

2.3.1. Corrosão

O controlo da corrosão requer mudanças no metal ou no meio que o envolve. Podem utilizar-se ligas metálicas mais resistentes à corrosão mas que são alvos de corrosão localizada e elevados custos. Em sistemas aquosos, existem três formas para inibir o meio envolvente à corrosão:[9]

1) Formando uma película de carbonato de cálcio na superfície metálica, utilizando-se cálcio natural e a alcalinidade da água;
2) Removendo o oxigénio corrosivo da água, por desarejamento químico ou mecânico;
3) Adicionando inibidores de corrosão.

Todos os sistemas de águas de refrigeração devem incluir um método de monitorização de corrosão. As ferramentas mais utilizadas para este fim incluem *coupons* metálicos de corrosão (Figura 5), sensores instantâneos da taxa de corrosão e ainda permutadores de calor teste. Os dados obtidos servem para optimizar o doseamento do inibidor no programa de tratamento.[9]

Os *coupons* metálicos de corrosão são pré-pesados e colocados no sistema para monitorizar a corrosão em sistemas de águas de refrigeração. Estes são removidos periodicamente, e a sua perda de peso por unidade de área superficial do *coupon* dá o valor da taxa de corrosão. Podem também ser avaliados visualmente quanto ao tipo de corrosão (por exemplo, *pitting)* e à sua gravidade. É necessário instalar os *coupons* de forma apropriada no sistema utilizando-se suportes ou racks, colocados à saída de permutadores e controlando-se o caudal de passagem do fluido. O material seleccionado para os *coupons* deve ser o mesmo do sistema. Uma desvantagem dos *coupons* é que a sua temperatura é bastante inferior à temperatura perto de um permutador de calor. Além disso, só é possível obter uma taxa de corrosão média ponderal.[9]



Figura 5 – C*oupons* metálicos de corrosão: a) cobre e b) aço inoxidável.

Os permutadores de calor teste são pequenos permutadores de calor que simulam as condições operatórias da instalação industrial, servindo para avaliar as tendências de corrosão e *fouling* em superfícies de transferência de calor e quantificar variações na sua eficiência.[17]

Há décadas que se recorre a sensores ou sondas de corrosão, métodos desenvolvidos e aplicados com base na electroquímica. Recorrem-se a metodologias como: a Resistência de Polarização Linear, a Espectroscopia de Impedância Electroquímica, a Modulação de Frequência Electroquímica e o Ruído Electroquímico, para a monitorização de corrosão:[17]

a) A Resistência de Polarização Linear é a metodologia mais comum para a detecção da corrosão de um metal, e envolve a aplicação de uma baixa voltagem (10 a 20 mV) a uma amostra para avaliar a corrente de resposta. Através desta corrente de resposta e da corrente de resposta em estado estacionário, é calculada a Resistência de Polarização. É um método muito usado devido à sua simplicidade e facilidade de utilização. No entanto, a medição é demorada e afecta a superfície do eléctrodo.
b) A Espectroscopia de Impedância Electroquímica é uma metodologia muito usada *in-situ* que determina as propriedades das interfaces sólido-líquido em sistemas electroquímicos. É aplicado um sinal sinusoidal com uma magnitude pequena por toda a interface, mede-se a correspondente resposta, e analisam-se esses dados recorrendo à teoria de corrente alterna. É uma metodologia que permite obter respostas rapidamente, sendo a dificuldade de interpretação de resultados a sua principal desvantagem.

c) A Modulação de Frequência Electroquímica é uma metodologia em que as respostas a correntes devidas a perturbações de uma ou mais ondas sinusoidais são medidas a frequências diferentes das do sinal aplicado. É um método rápido e não destrutivo para medições instantâneas da taxa de corrosão. No entanto, só pode ser aplicado em sistemas em que as taxas de corrosão são significativas.

d) O Ruído Electroquímico (RQ), mede a flutuação espontânea do potencial de corrosão e/ou da corrente gerada pela reacção de corrosão. Comparativamente aos outros métodos, o RQ permite examinar o processo de corrosão em tempo real e com elevada sensibilidade, sendo esta uma enorme vantagem para a detecção de corrosão localizada e passiva em fases iniciais. É um método de fácil aplicação e não-intrusivo. No entanto, é desvantajoso quanto à análise dos resultados, devido a factores múltiplos complexos que influenciam o sinal de ruído.

2.3.2. *Fouling*

Muitos sistemas de águas de refrigeração contêm sólidos em suspensão, que se concentram nas torres de refrigeração, devido à evaporação da água, causando *fouling*. Podem-se usar dispersantes para controlar este problema, depois do mesmo ser identificado. Alguns destes sólidos em suspensão provêm do contacto da água com o ar, outros da água de *make-up* e ainda da precipitação de produtos ou de massas microbiológicas (*biofouling*). Se os sólidos em suspensão são excessivos, pode-se constatar tal facto por análises à purga do sistema. Deve-se instalar um sistema de filtração ao circuito para filtrar parte da água em circulação, devendo o caudal de água filtrada ser igual ao da água perdida por evaporação na torre. A monitorização de *fouling* pode ser realizada com recurso a sensores, como descrito na secção 4.1.1.[9][18]

2.3.2.1 Incrustações

Análises à dureza total (cálcio e magnésio) quantificam a tendência a incrustações num sistema de águas. A alcalinidade total, o pH e a temperatura determinam as concentrações dos iões carbonato e bicarbonato, assim como a solubilidade do carbonato de cálcio. Todos estes parâmetros têm de ser controlados numa gama de valores aceitáveis para garantir a ausência de incrustações. As concentrações de sílica e de sulfato também devem ser controladas e mantidas em níveis razoáveis para evitar a formação de incrustações de gesso e sílica.[4]

2.3.2.2 *Biofouling*

Para evitar a formação de *biofouling* começa-se por utilizar sistemas de filtração, sendo a dificuldade desta técnica o espaço necessário para os leitos dos filtros e a necessidade de especial atenção pois, no caso de o tratamento não ser aplicado assiduamente, estes sistemas são autênticas incubadoras de microrganismos.[4]

Para neutralizar a formação de *biofouling* existem duas hipóteses: a utilização de métodos mecânicos e/ou a adição de químicos à água de refrigeração. A utilização de químicos para evitar o desenvolvimento de *biofouling* leva a problemas ambientais. Em particular, os biocidas têm uma natureza tóxica e podem apresentar riscos ecológicos. Para proteger o ambiente, a forma mais óbvia é evitar os tratamentos químicos, recorrendo a tecnologias mecânicas para reduzir o impacto do *biofouling* na eficiência de sistemas de águas de refrigeração. No entanto, nem sempre é possível ou rentável a sua aplicação.[5]

Quanto aos métodos mecânicos pode-se recorrer à circulação de bolas de espuma de borracha (*sponge rubber balls*) em tubagens com tendência à formação de biofilme, um método eficaz em condensadores de centrais eléctricas. No entanto, não é possível a utilização deste método, no caso do equipamento ou das tubagens a limpar se encontrarem em zonas muito dispersas na unidade. Nestas situações, recorre-se a sistemas de limpeza com escovas e caixa, em que um pincel de material apropriado é solto numa extremidade circulando nos tubos em contracorrente, sendo depois apanhado numa jaula perfurada ou gaiola. Finalmente, outro método mecânico consiste na utilização de tubos flexíveis (plásticos) que oscilam para sacudir os depósitos acumulados ou evitar a sua formação.[5]

Relativamente aos tratamentos químicos, utilizam-se biocidas, bioestabilizadores e biodispersantes. Os biocidas matam os microrganismos, os bioestabilizadores controlam o seu crescimento e os biodispersantes impõem uma carga eléctrica no substrato ou nas células individuais, ou aglomeram-se para reduzir a fixação de biofilme. Um tratamento comum é a combinação de biocida e biodispersante, podendo ser utilizados mais do que um biocida para melhorar a eficácia do tratamento.[5]

Com a actual preocupação ambiental, há uma tendência para reduzir o impacto dos aditivos químicos, utilizando-se a quantidade mínima de biocida para o controlo da actividade microbiológica. Ou, numa abordagem mais "verde" podem-se utilizar biocidas ecológicos, i.e., produtos químicos que se decompõem facilmente em produtos inócuos após a sua aplicação, como é o caso do peróxido de hidrogénio.[5]

Além disto e como prevenção, as torres de refrigeração devem ser revestidas de um material colorido e opaco, de forma a minimizar a quantidade de luz solar que penetra na torre reduzindo o crescimento de microrganismos e calcário e, consequentemente, a quantidade de biocida utilizada. Por outro lado, reduz-se também a degradação do biocida por acção da luz solar.[14]

Para o controlo de microrganismos, numa unidade de águas de refrigeração, são realizadas semanalmente análises de contagem microbiológica, sendo as amostras colhidas quando o sistema está sob controlo. Estes relatórios semanais apresentam erros na contagem das bactérias, dado que existem mais tipos de bactérias em sistemas de águas de refrigeração do que as bactérias por norma analisadas. No entanto, as análises microbiológicas permitem optimizar a dosagem de biocida, minimizar os custos do tratamento da água, e evitar paragens não programadas devido à contaminação microbiológica.[4] Estas análises podem ser realizadas com Dipslides, Figura 6.



Figura 6 – Dipslides para a determinação da contagem microbiológica.[19]

Um problema comum em sistemas de águas de refrigeração de uma passagem é o *fouling* de ferro, gerado pela contaminação de uma bactéria específica*: iron-depositing bacteria* (*sphaerotilus* ou *gallionella*). Se não houver um sistema de monitorização de análises à água de *make-up* este problema pode não ser antecipado e torna-se grave.[4][9]

Convencionalmente, as metodologias para detecção de bactérias incluem uma avaliação morfológica dos microrganismos, assim como testes que determinam o potencial de crescimento destes em vários meios e condições. Este processo é muito moroso, permitindo as metodologias padrão a detecção de uma única bactéria. Os métodos existentes para a contagem de bactérias são muito lentos visto que o desenvolvimento de uma colónia com cerca de 10^6 microrganismos pode demorar entre 18 a 24 h. Além disso, são necessários uma série de testes complexos para a identificação das bactérias ser confirmada.[20]

Algumas metodologias são muito sensíveis mas morosas como, por exemplo, a reacção em cadeia da polimerase (PCR) que pode ser usada para amplificar o sinal de pequenas quantidades de

material genético para a determinação da presença de bactérias. Neste caso, são necessárias amostras puras, horas de processamento e conhecimentos em biologia molecular.[20]

Apesar dos grandes esforços no desenvolvimento de biossensores nos últimos anos, poucos estão disponíveis no mercado. É um desafio criar biossensores com as características apropriadas para uma utilização eficaz e periódica. Estes sensores têm de conseguir distinguir a bactéria alvo numa matriz multicelular, e ter a capacidade e a sensibilidade para a detecção directa, *online* e em tempo real. Um biossensor ideal deverá ter: um limite de detecção baixo, selectividade às espécies ou estirpes, rapidez de análise, precisão, sem adição de reagentes, um formato automatizado, conseguir fazer a contagem de células viáveis, ser compacto e de *design* robusto e, ser capaz de fazer determinações por vias directas.[20]

Também são usados métodos como: contagem de células em microscópio, métodos que determinam parâmetros físicos como reacções oxidação-redução; métodos ópticos; calorimetria; técnicas de ultra-sons; detecção de componentes celulares como ATP, ADN, proteínas e lípidos.[20]

Em alternativa, é possível introduzir enzimas no sistema de forma a detectar bactérias através de biossensores baseados em anticorpos ou ácido nucleico.[20]

Também são utilizados biossensores baseados noutras tecnologias: electroquímicas, piezoeléctrodos, ópticas, acústicas e térmicas.[20]

Além destes métodos, podem-se utilizar *biocoupons* (Figura 7), que, à semelhança dos utilizados na corrosão, permitem determinar o potencial de formação de biofilme de um sistema. Estes *coupons* encontram-se já no mercado, mas são muito dispendiosos.



Figura 7 – *Biocoupons* para a determinação do potencial de formação de biofilme.[21]

2.3.2.3 Legionella

Para o controlo desta bactéria, o sistema deve ser mantido limpo, por via mecânica, recorrendo aos métodos enunciados na secção 2.3.2.2, ou a substâncias químicas. Pode-se recorrer ainda à desinfecção térmica que consiste num aumento da temperatura em todo o sistema com duração de pelo menos 1 h. Perante qualquer suspeita de contaminação de *legionella* é necessário um procedimento de descontaminação que implica uma paragem do processo.[11]

Apesar de todos os métodos apresentados, a utilização de químicos é premente quando se tratam de torres de refrigeração. Mesmo no caso da via mecânica ser rentável, é sempre necessária a adição de biocidas para evitar a acumulação de *biofouling* e eliminar a propagação de bactérias da espécie *legionella*.[5]

2.4. Objectivos

No presente trabalho, pretendeu-se monitorizar o *fouling* de condutas de águas, dando especial atenção ao potencial de *biofouling* nos sistemas de águas de refrigeração, um problema pouco investigado até ao presente. A monitorização foi realizada em ambiente laboratorial com o *Diveil Surface Sensor* (DSS), para seleccionar materiais que favoreçam a formação de *biofouling*.

Simultaneamente, fez-se o estudo e o desenvolvimento de *coupons* planos para a análise do potencial de formação de *biofouling*, em alternativa aos *coupons* comerciais muito dispendiosos existentes no mercado.

3. *Biofouling*: *State-of-the-art*

Nesta tese de mestrado, foram desenvolvidos *coupons* planos específicos para a detecção do potencial de formação de *biofouling*, em sistemas de águas de refrigeração em funcionamento ou em projecto. Para tal, foi necessário proceder a uma pesquisa bibliográfica sobre o tema.

Começou-se por determinar quais os microrganismos que se desenvolvem mais facilmente e que estão normalmente presentes em sistemas de águas de refrigeração. De seguida, pesquisaram-se os materiais onde é mais propício o desenvolvimento de *biofouling*. Por fim, cruzaram-se estas informações.

3.1. Microrganismos Presentes em Sistemas de Refrigeração

Os microrganismos encontram-se em toda a Natureza, no ar, na água e no solo e têm um papel crucial na saúde dos seres humanos e animais. Muitos são benéficos enquanto outros são patogénicos. A crescente importância destes microrganismos deve-se à sua capacidade de adesão nas superfícies de estruturas formando-se um biofilme seguido do seu crescimento e proliferação, o que afecta a qualidade da água, diminuindo a eficiência dos sistemas de refrigeração e mesmo pondo em risco a saúde pública.[22]

Os microrganismos podem entrar nas torres de refrigeração por duas vias: pela água de alimentação ou pelo ar que nelas circula. Existem três tipos de microrganismos podem ser encontrados nas torres de refrigeração: algas, bactérias e fungos.[4][22]

3.1.1. Algas

Para o crescimento de algas é necessário ar, água e sol. A ausência de um destes três factores previne a sua formação. As superfícies de uma torre de refrigeração têm as condições adequadas para o seu crescimento.[22]

As algas produtoras de oxigénio podem aumentar a corrosão, enquanto que as algas verde-azuis podem extrair azoto do ar e convertê-lo em outros compostos. A fixação deste azoto pode levar este a decompor-se em nitritos rapidamente. As algas diátomos causam a acumulação de sílica pois as suas paredes celulares estão impregnadas com polímero de sílica.[22]

Existem cerca de 1,8 × 10^4 a 2,5 × 10^4 tipos de algas conhecidos. Na Tabela 2, encontram-se as principais categorias de algas encontradas em torres de refrigeração e as respectivas temperaturas e pH óptimos para o seu desenvolvimento.[22]

Tabela 2 – Tipos de algas presentes em sistemas de águas de refrigeração.[22]

Grupo de Algas	Exemplos	Condições de Crescimento	
		Temperatura (ºC)	pH
Verdes	Protozoário (*Chlorella*) Filamentosa (*Ulothix* e *Spirogyra*)	30 - 35	5 - 9
Azul-verdes	Protozoário (*Anacystis*) Filamentosa (*Phomidium* e *Osillatoria*)	35 - 40	
Diátomos	Filamento Longo e Fino (*Flagilaria*) Convoluto (*Cyclotella*) Forma Rectangular e Filamentosa (*Diatorma*)	18 - 36	

3.1.2. Fungos

Os fungos são frequentemente classificados como plantas que não fazem fotossíntese. Há cerca de 8 × 10^4 tipos de fungos conhecidos. Na Tabela 3, apresentam-se algumas características dos fungos, e as gamas de pH e temperatura óptimas para o seu crescimento em sistemas de refrigeração.[22]

Tabela 3 – Tipos de fungos presentes em sistemas de águas de refrigeração.[22]

Tipos de Fungos	Exemplos	Propriedades	Condições de Crescimento	
			Temperatura (ºC)	pH
Bolores filamentosos	*Aspergillos* *Penecilium* *Fusarinm Alternaria*	Preto, azul, verde, amarelo, branco Cinzento castanho, bronze Castanho, rosa	0 - 38	2 - 8 (melhor de 5 - 6)
Leveduras	*Torula* *Sacharomces*	Parecido a pele ou borracha, bom crescimento quando há material pintado		
Basisdiomy Cetes	*Poria Sacharomces*	Branco ou castanho		

Como os fungos não têm clorofila, não se alimentam por fotossíntese, e o metabolismo de materiais orgânicos é fornecido pelo sistema. Numa torre de refrigeração os fungos são um problema, pois podem usar a madeira da torre como alimento, provocando a sua destruição.[22]

3.1.3. Bactérias

Em equipamentos de refrigeração são encontradas inúmeras bactérias. Geralmente, em termos de morfologia, temperatura, oxigénio e alimentação, podem ser classificadas de acordo com:[22]

a) **Aparência:** *Cocos* (forma esférica); *Bacillus* (em haste); *Aspy Rylvm* (em espiral); *Coma* (forma curva);
b) **Temperatura:** *Saicrofilic* (temperatura baixa, 0 – 20 ºC); *Mezofilic* (temperatura média, 20 – 45 ºC); *Termofilic* (temperatura elevada, 45 – 70 ºC);
c) **Oxigénio:** Bactérias aeróbias - precisam de ar para viver; Bactérias anaeróbicas - podem viver na ausência de ar; Bactérias arbitrárias - vivem com ou sem ar, sendo o crescimento maior com ar; Bactérias sem diferença - podem viver com ou sem ar, mas o seu crescimento sem ar é maior.
d) **Alimentação:** Bactérias autotróficas, que têm a capacidade de produzir o seu próprio alimento, tais como as bactérias de alimentação automática cuja energia é obtida pela oxidação de minerais; Bactérias de várias alimentações cuja energia é obtida a partir de minerais e orgânicos; Bactérias heterotróficas que utilizam fontes externas para se alimentarem, tais como as bactérias parasitas que se alimentam de material orgânico vivo; e as Bactérias "*dead-eating*" que se alimentam de material morto e putrefacto.

Por outro lado, as bactérias podem classificar-se pelo tipo de problema que causam:[4]

a) **Bactérias formadoras de biofilme**, que formam uma camada viscosa de microrganismos na superfície, denominada por biofilme;
b) **Bactérias formadoras de esporos**, que se tornam inertes em ambientes hostis, mas conseguem retomar o seu crescimento mal tenham as condições necessárias, sendo muito difíceis de controlar. A presença destes esporos não afecta a grande maioria dos processos;
c) **Bactérias depositadoras de ferro**, que causam a oxidação do ferro solúvel nas águas e a subsequente deposição do ferro insolúvel, ou seja, *fouling*;
d) **Bactérias nitrificantes**, que geram ácido nítrico a partir de contaminações de amónia, causando sérios problemas de corrosão;
e) **Bactérias redutoras de sulfato**, que geram sulfitos a partir de sulfatos e podem causar corrosão localizada;
f) **Bactérias anaeróbicas corrosivas**, que causam corrosão localizada pela secreção de resíduos corrosivos, e que se encontram por baixo de depósitos, onde há uma deficiência de oxigénio.

Na Tabela 4 encontram-se as principais bactérias presentes em sistemas de refrigeração, bem como exemplos de cada tipo de bactéria e problemas associados à sua presença.

Tabela 4 – Tipos de bactérias presentes em sistemas de águas de refrigeração.[22]

Tipo de Bactérias	Exemplos	Condições de Crescimento		Problemas Associados
		T (ºC)	pH	
Revestimento Aeróbico	*Aerobacter, Aerogenes, Flaviobacterion, Proteus Vulgais, Serratia, Alcaligenes*	20 - 40	4 - 8 (7,4)	Em grande quantidade produzem sedimentos
Escudo Aeróbico	*Bacillus Mycoides, Bacillus Subtilis*		5 - 8	Produzem sedimentos
Enxofre Aeróbico	*Tiobacillus, Thio o Xdans*		0,6 - 6	Enxofre oxidado a tinta
Bactéria Redutora de Sulfato Anaeróbica	*Desulfuricoms*		4 – 8 (7)	Crescem debaixo de sedimentos aeróbicos, causando corrosão
Ferro	*Crenotix, Leptotrix, Gallionella*		5,9 - 7,4	Hidratos de ferro depositam-se sobre as células, aumentando o processo de sedimentação

Usualmente o crescimento das bactérias dá-se entre 20 e 40 ºC, mas em algumas espécies e sob determinadas condições dá-se entre 4,5 e 70 ºC. Em geral, o crescimento de microrganismos depende das condições físicas (temperatura, pH, luz solar, pressão, etc.) e do alimento (água, dióxido de carbono, azoto, fósforo, etc.). Na sua maioria com um aumento de temperatura o crescimento das bactérias é favorecido. Acima de 10 ºC a temperatura é óptima para o crescimento de microrganismos do solo e, para os sistemas de águas de refrigeração é entre 25 e 35 ºC.[22]

O crescimento contínuo e a acumulação de bactérias causam sérios problemas em sistemas de águas de refrigeração. Quando numa instalação os problemas microbiológicos na água não são controlados, ocorrem problemas de erosão e sedimentação. Outro problema é o apodrecimento da madeira, causando um aumento nos custos de operação e manutenção.[22]

3.2. Desenvolvimento de *Biofouling*

Os microrganismos em sistemas de refrigeração formam estruturas complexas nas superfícies das tubagens e equipamentos, compostas pelas células microbiológicas e derivados da sua actividade metabólica. Uma colónia microbiológica é iniciada quando matéria dissolvida e/ou particulada é transportada do seio do líquido para essas superfícies, originando aí uma acumulação local de nutrientes.[23]

As células microbianas presentes na água entram em contacto com as superfícies ricas em nutrientes e aderem ao substrato, começando a crescer e a reproduzir-se. O material extracelular produzido pelas bactérias facilita a fixação de mais bactérias e de outros microrganismos como fungos, microalgas, protozoários, macroalgas e ainda invertebrados.[23][24]

A formação de biofilme e as suas propriedades são afectadas por diversos factores, nomeadamente a qualidade da água, o tipo de substrato para a colonização, a temperatura e até mesmo a estação do ano. O meio aquoso e o substrato influenciam os microrganismos que irão predominar no *biofouling*. Em alguns casos de corrosão induzida por colonizações microbianas, a morfologia e distribuição dos depósitos indicam o tipo de *fouling* microbiano.[24]

Os sistemas de refrigeração são muito utilizados numa vasta gama de sectores industriais. A água utilizada nestes sistemas pode ser proveniente da rede de abastecimento local, efectuando-se recirculação. No caso de proximidade do mar, utiliza-se água do mar mas sem recirculação. Neste caso, devido ao elevado teor de matéria orgânica há reprodução de uma grande variedade de microrganismos; e a elevada concentração de sólidos em suspensão favorece a corrosão das superfícies metálicas. A corrosão em sistemas de águas de refrigeração é essencialmente causada pela presença de cloretos. Os microrganismos aceleram este processo, tornando fundamental a existência de métodos de detecção.[24]

O biofilme é formado sobre superfícies sólidas, uma vez que os nutrientes estão em maiores quantidades nestes locais do que no seio do líquido. A adesão é favorecida pela excreção microbiana de uma matriz de microrganismos. No biofilme, o microambiente é formado por várias microcolónias bem como canais de líquido em volta destas, permitindo o acesso aos nutrientes. Um biofilme maduro pode levar entre algumas horas a semanas para se desenvolver, dependendo das condições do meio em que se encontra. Na literatura existem várias teorias propostas para a formação de biofilmes. [25]

A formação e o desenvolvimento de biofilme inclui 5 fases, como representado na Figura 8.[25]

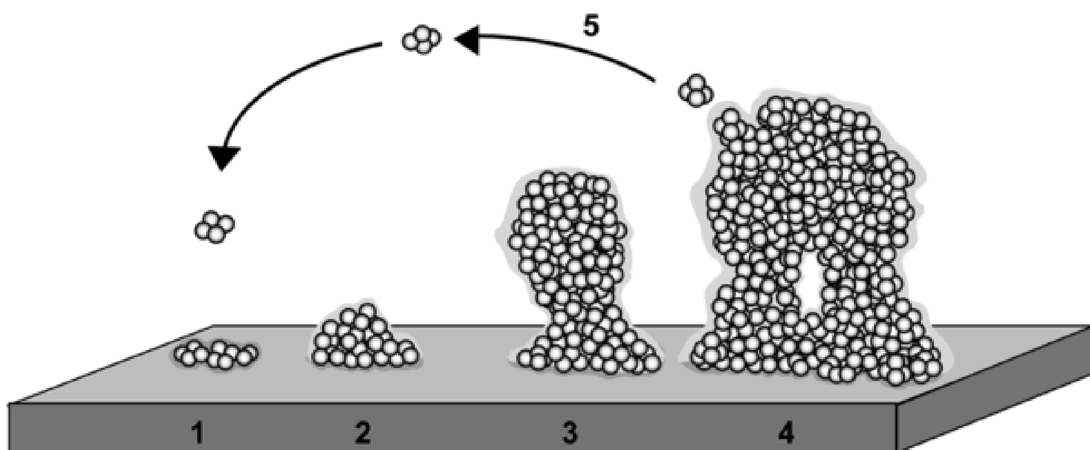


Figura 8 – Esquema das fases de crescimento do biofilme: 1 – Adsorção inicial das células à superfície; 2 – Produção de uma matriz celular; 3 – Desenvolvimento do biofilme e sua geometria; 4 – Maturação do biofilme; 5 – Dispersão das células do biofilme.[26]

Numa primeira fase, dá-se a adsorção inicial de células na superfície, a qual é reversível. Esta fase envolve a aproximação de um microrganismo à superfície, e a adsorção dá-se por atracção electrostática, dependendo de um balanço de forças atractivas e repulsivas entre as bactérias e a superfície. [25][27][28][29]

Na segunda fase, ocorre a consolidação das células adsorvidas produzindo-se material extracelular por via do próprio metabolismo celular. Este material não só permite a adsorção de células à superfície, mas também captura nutrientes do seio do líquido. [25][27][28] [29]

Na terceira fase, com a acumulação de nutrientes, as células iniciais reproduzem-se originando microcolónias e tornando a adsorção irreversível. As microcolónias produzem material extracelular e este passa a actuar como substrato para a adesão de novos microrganismos, que aderem directamente aos iniciais ou formam coagregados com outros microrganismos e só então aderem aos iniciais. [25][27][28] [29]

A quarta etapa consiste na maturação do biofilme, aumentando a sua densidade e complexidade à medida que as células se dividem. Nesta fase o biofilme torna-se extremamente hidratado (aspecto gelatinoso e escorregadio), com cerca de 75 - 95 % de material não celular incluindo os canais por onde circulam os nutrientes. [25][27][28] [29]

Na quinta fase, quando o biofilme atinge uma determinada massa crítica, as camadas mais externas deste libertam células que podem dispersar-se e multiplicar-se rapidamente, colonizando novas superfícies e organizando novos biofilmes em outros locais.[25][27][28] [29]

A concentração de oxigénio, o pH, a temperatura e a exposição solar determinam o desenvolvimento do biofilme. No entanto, a adesão bacteriana é um processo complexo que é afectado por inúmeros outros factores, por exemplo as propriedades dos materiais, os factores do meio envolvente e as características das bactérias.[30]

De entre as características globais de um material, as que influenciam a adesão de microrganismos incluem a composição química do material, a carga eléctrica da superfície, a hidrofobicidade e a rugosidade da superfície. [29][30]

A composição química da superfície influencia a adesão e proliferação de microrganismos porque diferentes grupos funcionais apresentam diferentes hidrofilicidades e cargas eléctricas.[30]

Quanto à rugosidade da superfície, sabe-se que a adsorção inicial e a consequente proliferação de biofilme, é tanto maior quanto maior for a rugosidade, dado que a área superficial é maior em materiais rugosos favorecendo a colonização. A taxa de crescimento é tanto maior quanto mais irregularidades superficiais, especialmente com o mesmo tamanho dos microrganismos (maximizando a área microrganismo-superfície).[30]

Em geral, os microrganismos aderem mais facilmente a superfícies hidrofóbicas apolares, como é o caso de plásticos, mas esta adesão também depende muito da hidrofobicidade do microrganismo.[31] Todavia, no estudo realizado por Grenho a adesão microbiana revelou-se tanto maior quanto mais hidrofílicos os materiais.[30]

Outro parâmetro relevante no desenvolvimento de biofilme é a tensão de corte. Quando os biofilmes se formam em zonas de baixa tensão de corte, apresentam uma baixa resistência à tracção e quebram-se com facilidade, enquanto que, se se formam em zonas de elevada tensão de corte, são bastante fortes e resistentes. Assim, a formação do biofilme ocorre preferencialmente em zonas de elevada tensão de corte. Especula-se ainda que a adesão de microrganismos e a formação de biofilmes é potenciada em regimes turbulentos devido ao aumento das colisões entre os microrganismos que se encontram no seio do líquido e na superfície.[32]

3.3. Detecção de *Biofouling*

Ainda há muita controvérsia sobre o efeito das superfícies do material no desenvolvimento de biofilmes. No passado, as tubagens de distribuição de águas eram de ferro ou cobre. Mais recentemente, deu-se preferência a materiais poliméricos, como o cloreto de polivinilo (PVC) e o polietileno (PE), devido à facilidade de manuseamento em sistemas de distribuição de águas e ao *biofouling* formado nestes materiais ser inferior ao desenvolvido em matrizes de ferro. Isto acontece, pois a corrosão do ferro gera produtos que favorecem a formação de *biofouling*. O mesmo estudo mostra que não há diferença na contagem de células viáveis nos *coupons* de PE e PVC.[33]

Contrariamente, foi observado que materiais poliméricos como o PVC e o PE promovem mais o crescimento de biofilme do que o aço carbono, mas aparentemente o material tem menos influência no desenvolvimento do que a presença de cloro.[34] A contagem de células do biofilme é superior em superfícies de PVC face a aço inoxidável.[35]

Lethola estudou o desenvolvimento de *biofouling* em PE e cobre. A formação de biofilme é menor em tubagens de cobre do que de PE. Contudo, não há diferença no biofilme formado nestes dois materiais, após cerca de 200 dias.[36] Analogamente, Schwartz et al. estudaram o desenvolvimento de *biofouling* em polietileno de alta densidade (HDPE), PVC e cobre. No caso do HDPE e PVC, a densidade de células variou entre os 35 – 38 % e no cobre era cerca de 10 %.[37]

Os microrganismos contaminam todo o tipo de superfícies, e certos tipos de bactérias podem adsorver-se às superfícies durante meses. Uma limpeza frequente e eficiente diminui essa possibilidade, mas a eliminação total é impossível. Em hospitais, uma limpeza eficaz e a utilização de superfícies de cobre é uma solução razoável. Apesar das propriedades antibacterianas do cobre não estarem completamente confirmadas, há estudos que comprovam que superfícies deste material conduzem a contagens de microrganismos inferiores.[38]

Materiais como o cobre e o aço inoxidável e o aço carbono são frequentemente utilizados no fabrico de *coupons*, principalmente para quantificar os potenciais de corrosão.

No presente trabalho um dos objectivos é desenvolver *coupons* planos específicos para a quantificação do potencial de crescimento de *biofouling* e, uma vez que, o seu desenvolvimento depende muito da capacidade de adesão dos microrganismos na superfície do *coupon*, optou-se por utilizar os materiais clássicos da corrosão, o cobre e o aço inoxidável, dois plásticos, o PVC e o HDPE e ainda o neoprene, uma borracha aparentemente fibrosa que favorecerá o *biofouling*, sendo possível detectá-lo muito antes de este afectar o sistema.

4. Parte Experimental

Um dos objectivos do presente trabalho, consistiu no estudo do desempenho de vários *coupons* por comparação com a resposta do *Diveil Surface Sensor* (DSS) na detecção de *biofouling*. Para tal, montou-se uma instalação laboratorial e recorreu-se a *coupons* cilíndricos e planos para quantificar o *biofouling* aderido nas suas superfícies de forma a seleccionar os materiais mais eficazes.

4.1. Montagem Laboratorial

Para avaliar a dependência do potencial de desenvolvimento de *biofouling* dos materiais e das dimensões características das condutas de águas de refrigeração, recorreu-se a uma montagem laboratorial. Nesta montagem, tinha-se um fluido teste a recircular em sistema fechado, o qual era aquecido com um termoaquecedor de aquário TETRA HT 100 (referência: 131 064 220) variando a temperatura entre 20 e 28 ˚C. Com o auxílio de uma bomba centrifuga, *Grundfus Type*: UPS 25 - 60 N, P/N:96913083, fazia-se recircular água por duas tubagens paralelas com materiais e diâmetros distintos. Visto que se pretende testar o desempenho dos *coupons* de diferentes materiais, impuseram-se caudais que correspondessem a números de Reynolds semelhantes nas duas condutas para serem comparáveis em termos de regime de circulação, e a velocidades médias na ordem de 0,5 $m \cdot s^{-1}$, apesar de na indústria se trabalhar a velocidades médias de 1 – 2 $m \cdot s^{-1}$.

O fluido teste circulava por duas tubagens distintas: uma em aço inoxidável com diâmetro interno de 8 mm e outra em PVC com 10 mm de diâmetro interno. Em cada tubagem encontrava-se um tubo sensor DSS (dianteira) que efectuava a monitorização da adesão de biofilmes nas superfícies das tubagens e quatro *coupons* cilíndricos em série (traseira) do mesmo material e com o mesmo diâmetro interno para poder quantificar a massa de biofilmes aderidos, como esquematizado na Figura 9 e na Figura 10.

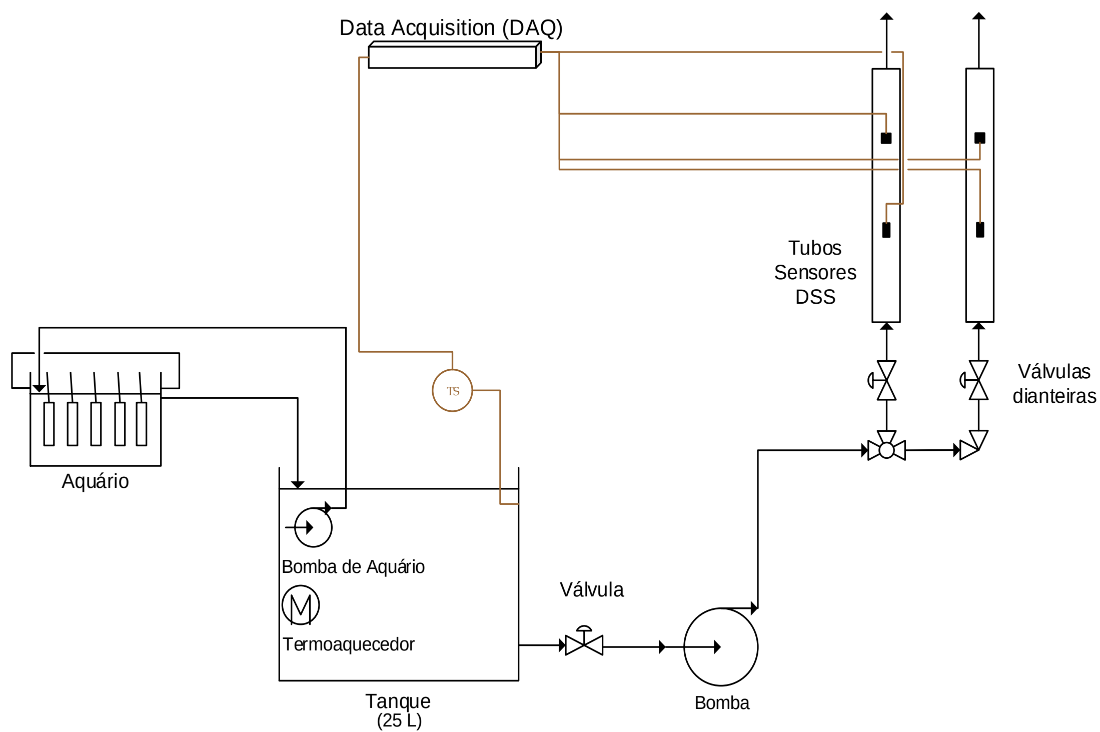


Figura 9 – Vista dianteira da montagem laboratorial.

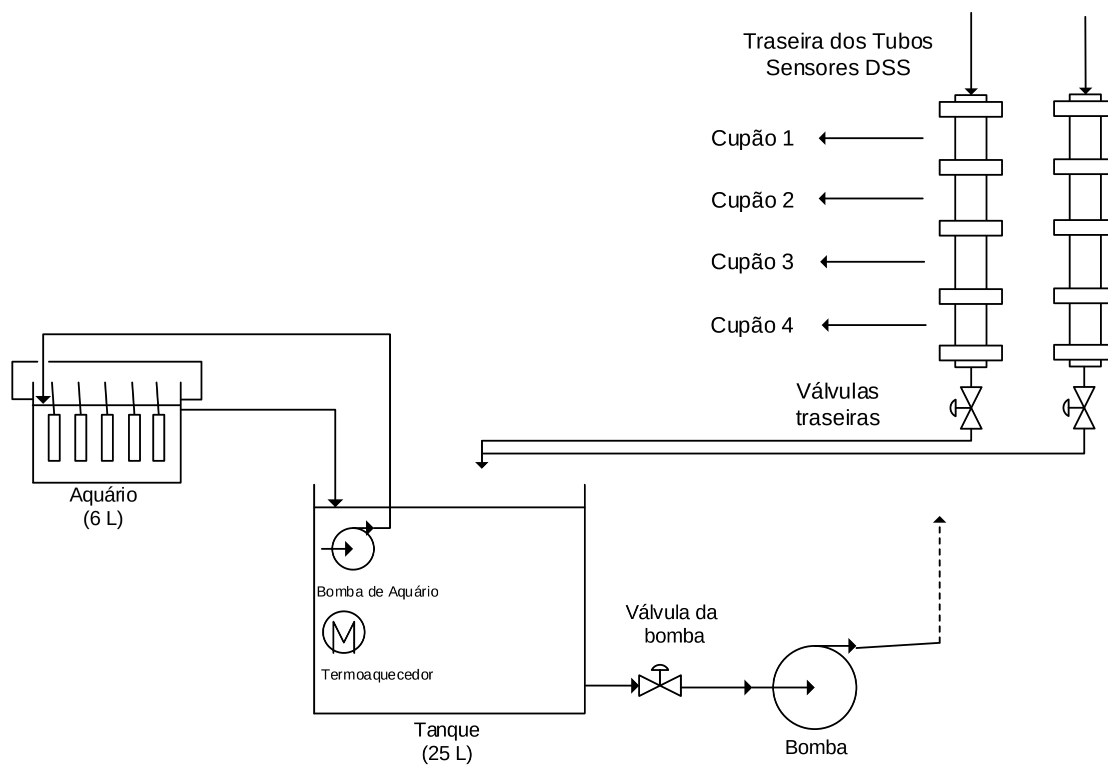


Figura 10 – Vista traseira da montagem laboratorial.

Os *coupons* cilíndricos foram montados em série na mesma tubagem em que estavam os tubos sensores, sendo do mesmo material e do mesmo diâmetro que estes (Figura 11).



Figura 11 – *Coupons* cilíndricos acoplados aos tubos sensores DSS: a) aço inox, D=8 mm, b) PVC, D=10 mm.

As dimensões dos *coupons* cilíndricos encontram-se listadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Dimensões dos *coupons* cilíndricos acoplados aos tubos sensores DSS.

	D (mm)	**L (mm)**
Aço inox	8	47
PVC	10	59

Para além dos *coupons* cilíndricos, testaram-se *coupons* planos de materiais distintos (cobre, aço inoxidável, HDPE, PVC e neoprene) específicos para a detecção do potencial de *biofouling*. Tal como exemplificado na Figura 9, recorreu-se a uma bomba de aquário, EDEN 106 S, Type:T0, que recirculava o fluido teste, com um caudal de 35 L/h, a um aquário onde se encontravam os *coupons* planos. Neste aquário não existia aquecimento e ocorria dissipação de calor por convecção natural, portanto a temperatura no aquário era inferior à do tanque. Instalou-se também um tubo ladrão no aquário para evitar o transbordo do fluido nele contido.

Na Figura 12, apresenta-se um esquema do aquário onde foram colocados cinco *coupons* planos de cada material em estudo: cobre, aço inoxidável, HDPE, PVC e neoprene.

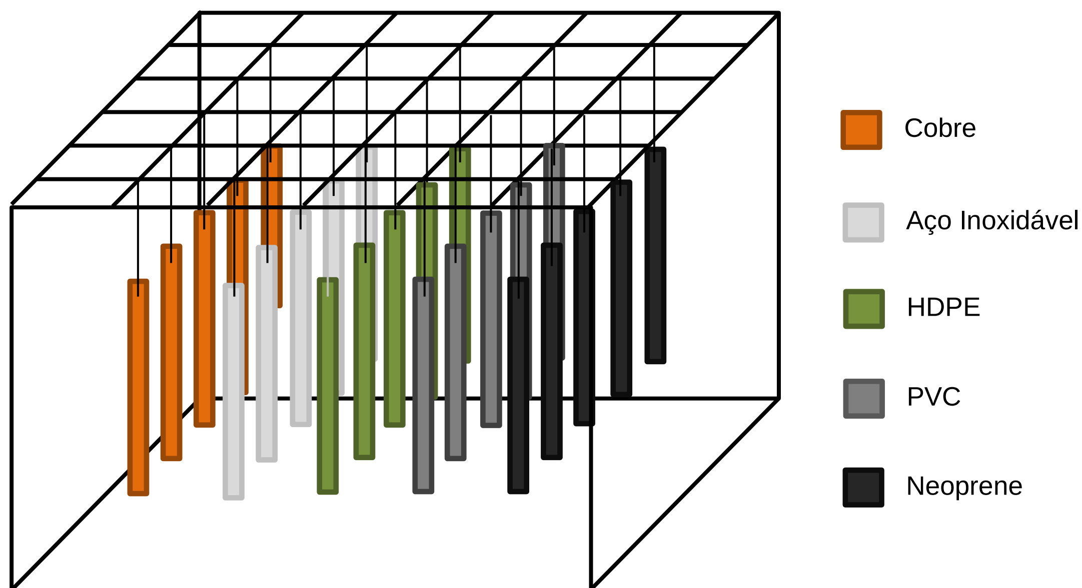


Figura 12 – Zoom do aquário.

Os *coupons* de aço inox e de cobre eram *coupons* normalmente utilizados na monitorização de corrosão e foram adquiridos à Imotron Instruments B.V.. Os *coupons* de PVC e HDPE foram adquiridos à Neves & Neves. Os *coupons* de neoprene foram construídos a partir de um fato de mergulho em neoprene e fixos com clips para manterem a forma debaixo de água.

Na Figura 13, encontra-se representada a geometria de um *coupon* plano.

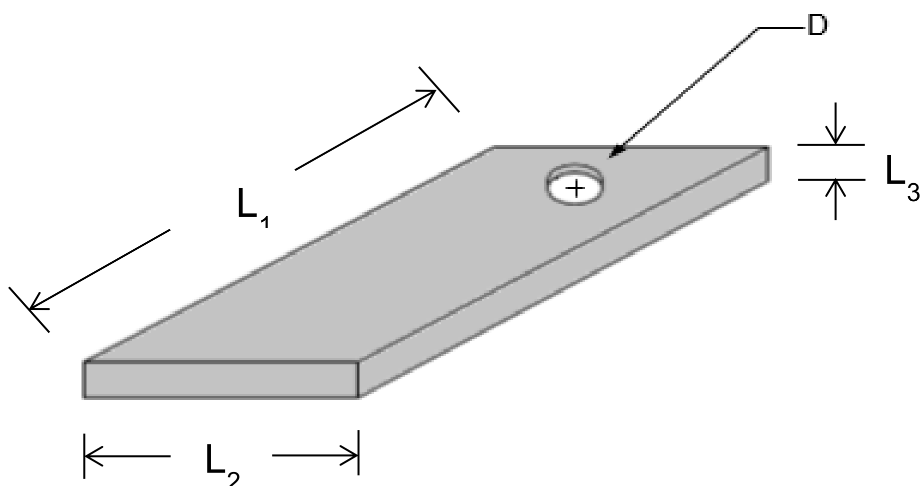


Figura 13 – Geometria dos *coupons* planos.

As dimensões dos *coupons* planos foram medidas com um paquímetro digital e encontram-se listadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Dimensões dos *coupons* planos.

	L_1 (mm)	L_2 (mm)	L_3 (mm)	D (mm)
Cobre	76	13	1	5
Aço inox	76	12	1	5
PVC	75	12	2	5
HDPE	75	12	2	5
Neoprene	76	13	8	-

Mostram-se na Figura 14 os *coupons* planos testados.

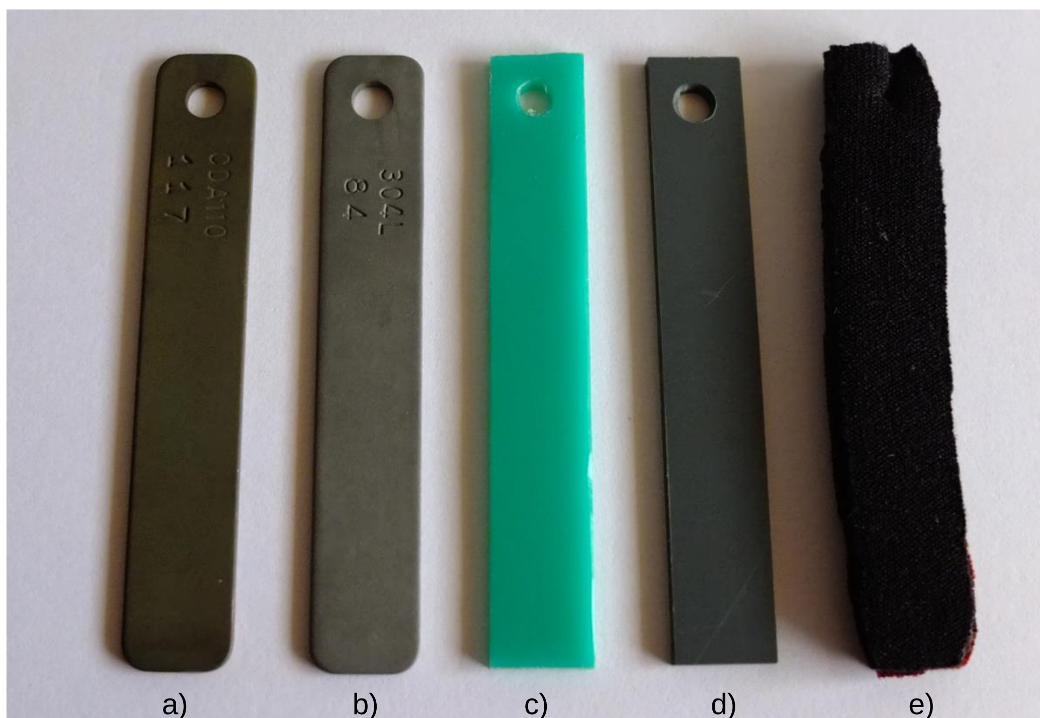


Figura 14 – C*oupons* planos para a detecção de *biofouling*: a) cobre, b) aço inoxidável, c) HDPE, d) PVC, e) neoprene.

4.1.1. *Diveil Surface Sensor*

O *Diveil Surface Sensor* (DSS) baseia-se na análise de uma vibração de resposta da superfície monitorizada e é um sistema comercializado pela empresa Enkrott, S.A..

O DSS quantifica variações nas propriedades das vibrações de uma superfície devidas à adesão ou remoção de depósitos. O sistema é constituído por um actuador, que produz uma vibração, a qual se propaga na superfície e a vibração resposta é captada por um sensor receptor. Os dados são recolhidos em tempo real e processados matematicamente. Um sistema DSS é constituído pelos componentes esquematizados na Figura 15.

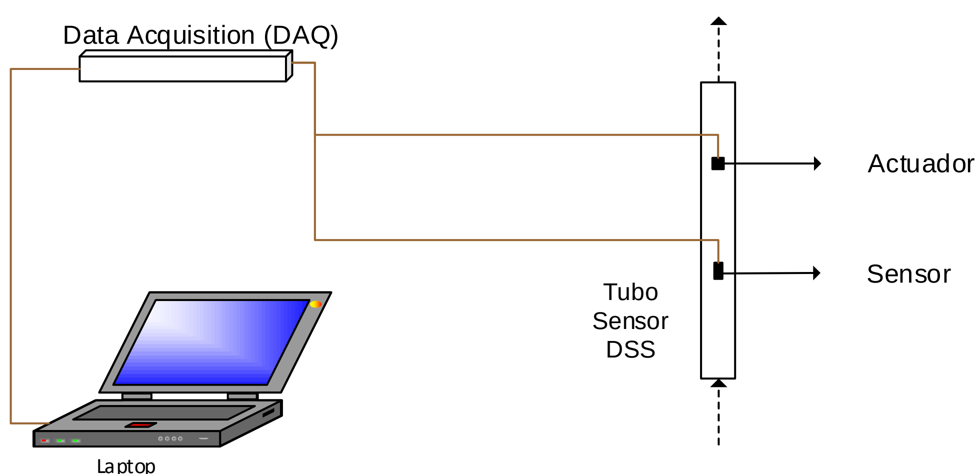


Figura 15 – Esquema de um sistema *Diveil Surface Sensor*.

O DSS pretende detectar e avaliar a quantidade de depósito aderida numa superfície. Qualquer adesão, crescimento ou remoção de depósitos da superfície afecta a vibração captada pelo DSS (*output*).

O actuador e o sensor são colocados na superfície exterior do tubo sensor DSS, isto é, não entram em contacto com o fluido, tratando-se de um método não intrusivo. É de notar que a vibração é de tão baixa amplitude (na ordem das nano vibrações), que não afecta o início da formação de depósito.[39]

O actuador estimula a superfície do tubo sensor com um sinal sinusoidal, a uma frequência de ressonância apropriada ao sistema. A resposta a esta excitação é captada pelo sensor e recolhida pelo computador para processamento do sinal.[18][40]

Segundo Pereira et al. a amplitude normalizada e o DF (factor de amortecimento) são os parâmetros que indicam a quantidade e tipo/natureza do depósito. A amplitude de vibração é directamente proporcional à quantidade de depósito aderido na superfície monitorizada, sendo por isso possível, através da análise da amplitude avaliar a quantidade de depósito no sistema. O DF

representa a capacidade do DSS em reduzir a intensidade da vibração da superfície. Para depósitos viscoelásticos observaram-se maiores valores de DF.[39]

Numa indústria, pode-se optar pela aquisição de um dos métodos de detecção de *biofouling* (DSS e/ou *coupons*), dependendo a sua selecção de factores como a rapidez de análise, contaminações e custos da monitorização de *biofouling*.

4.1.2. Fluido Teste

Os ensaios que se apresentam neste trabalho, foram realizados com um fluido teste que consistia numa amostra de água colhida numa torre de refrigeração de uma indústria alimentar. Esta água continha contaminações do processo que potenciam o crescimento de biofilmes.

Na Tabela 7, apresenta-se a caracterização do fluido teste, incluindo o valor de pH determinado pelo medidor de pH Hanna Instruments Modelo TPM – 99121. O fluido teste em ambos os ensaios de adesão de *biofouling* apresentava uma concentração de compostos inorgânicos significativa de acordo com as medidas de condutividade, efectuadas com um condutivímetro Hanna Instruments Modelo HI-8733. Nos Anexos 1.1 e 1.2 encontram-se a contagem bacteriana e a identificação bacteriológica sumária da água, antes e depois do primeiro ensaio de adesão de biofilme, realizadas pelo método de membrana filtrante no Laboratório de Análises do IST. Na Tabela 7, encontram-se também as cores do fluido teste, indicativas da concentração de compostos orgânicos.

Tabela 7 – Caracterização do fluido teste.

	pH	**Condutividade (μS/cm)**	**Cor**	**Contagem bacteriana (UFC / 100 mL)**		**Identificação bacteriológica sumária**	
				Antes	**Depois**	**Antes**	**Depois**
Ensaio 1	6,5	1580	Castanho escuro	2×10^8	$6{,}67 \times 10^7$	20 % - coccus positivos 80 % - bacillus negativos	24 % - coccus positivos 76 % - bacillus negativos
Ensaio 2	8,0	1210	Castanho claro	-	-	-	-

4.2. Procedimentos Laboratoriais

Para a caracterização dos materiais e para a realização dos ensaios de adesão e remoção de *biofouling* foram seguidos os seguintes protocolos previamente estabelecidos.

4.2.1. Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)

O SEM é um equipamento utilizado para o desenvolvimento e controlo da qualidade de materiais. Os domínios de aplicação desta técnica estendem-se desde a caracterização microestrutural de amostras até aplicações em diversas áreas científicas. A aplicação desta metodologia permite identificar defeitos e detectar impurezas, realizar estudos de adesão, corrosão e fractura.[41]

Baseia-se na incidência de um feixe de electrões na amostra que resulta na emissão de diversos tipos de radiação e electrões que posteriormente são focados através de um sistema de lentes de alta resolução. Esta técnica permite obter uma imagem de elevada resolução da superfície de uma amostra.[41]

Para as amostras poderem ser caracterizadas por microscopia SEM, têm de apresentar uma boa condutividade eléctrica superficial. Caso contrário, têm de ser revestidas por um bom condutor, por exemplo ouro, platina, crómio ou grafite, sendo o revestimento efectuado sob vácuo.[41]

Cortaram-se amostras dos *coupons* de cobre, aço inox, HDPE, PVC e neoprene para observação do aspecto da sua superfície (porosidade superficial, rugosidade, etc) por Microscopia Electrónica de Varrimento. Como pré-tratamento, lavaram-se as amostras com álcool para remover gorduras. De seguida, foi necessário fixar as amostras no porta-amostras.

Para as amostras metálicas de cobre e aço inox, foi apenas necessária fita condutora que, para além de garantir a condução do feixe de electrões, evita a distorção da imagem devido a descargas do metal e serve também para fixar a amostra no porta-amostras.

No caso das amostras não metálicas (HDPE, PVC e neoprene) foi necessário um revestimento de crómio que garantiu a condução eléctrica das amostras quando sujeitas ao feixe de electrões. Para o revestimento de crómio recorreu-se a um *sputter coater* sob vácuo (QUORUM - Q150TES), no qual se inseriram as amostras que foram pulverizadas com crómio vaporizado.

O procedimento para o revestimento de crómio consistiu em:

1) Inserir as amostras e o crómio (P_0= 1 bar);
2) Correr *QT Time Chromium* (P= 4×10^{-4} mbar) (cerca de 6,5 min);
3) Correr *QT Vent Chamber*.

Foi ainda colocada fita condutora nas faces laterais e no topo das amostras para a sua fixação no porta-amostras.

Após os pré-tratamentos referidos inseriram-se as amostras no Microscópio SEM (JEOL JSM - 7001F - *Field Emission Scanning Electron Microscope*) e procedeu-se à sua visualização.

4.2.2. Tomografia Computadorizada de Raios-X

A Tomografia Axial Computadorizada (TAC) por adesão de raios-X, foi inicialmente concebida para visualizar de uma forma não invasiva estruturas internas do corpo humano, através de um conjunto de "fatias" de imagens. No entanto, recentemente tem sido uma ferramenta importante de controlo de qualidade de materiais. Sem danificar a amostra, permite detectar descontinuidades, fissuras, poros e impurezas. Esta técnica permite uma visualização de uma amostra em 3D.[42]

Cortaram-se amostras dos *coupons* de neoprene e PVC para averiguação da existência de porosidade (aberta ou fechada) no seu interior e sua eventual determinação através de Tomografia Computadorizada de Raios-X. As amostras foram inseridas no porta-amostras do tomógrafo (SkyScan 1172 - *X-Ray Micro Tomograph*) e esperaram-se algumas horas para a aquisição de dados completa no computador.

É de referir que o limite de detecção do equipamento é da ordem dos 5 μm, tamanho do *pixel*.

4.2.3. Porosimetria Gasosa

A textura de um material, nomeadamente a identificação de microporos (diâmetro < 2 nm) ou mesoporos (2 nm < diâmetro < 50 nm) e a determinação da porosidade aberta de um material pode ser efectuada recorrendo à Porosimetria Gasosa.[43]

Nesta técnica ocorre a adesão de um gás (N_2, por exemplo) por um sólido. A quantidade de gás adsorvido é tanto maior quanto maior for a área superficial e depende da temperatura e da pressão. Uma isotérmica de adesão representa a relação, a temperatura constante, entre a pressão parcial do gás e a quantidade de gás adsorvido pelo sólido, no equilíbrio. Aumentando a pressão de gás entre 0 e a sua pressão de saturação, a quantidade de gás adsorvido aumenta desde 0 (para $P/P_{sat} = 0$), até se atingir um patamar, e o gás condensa sobre o sólido (para $P/P_{sat} = 1$).[43]

Cortou-se uma amostra dos *coupons* de PVC para se efectuar a determinação da sua porosidade aberta através de Porosimetria Gasosa, recorrendo-se a um analisador de Azoto, ASAP 2010 micrometrics, operando a 77 K ($P_{sat,N2} = 75{,}9$ cmHg).

O único pré-tratamento da amostra de PVC consistiu em colocá-la em um forno de vácuo ($P_{absoluta}$=1,2 cm Hg) pelo menos 12 h.

4.2.4. Goniometria

A molhabilidade das superfícies pode ser quantificada pela determinação do ângulo de contacto de um líquido sobre uma amostra sólida. A molhabilidade relaciona-se directamente com a energia superficial, a rugosidade e a heterogeneidade das superfícies.[44]

A goniometria é utilizada para determinar a hidrofobicidade/hidrofilicidade de materiais. Quanto maior o ângulo de contacto, mais o material é hidrofóbico, ou seja, mais repele a água. Esta técnica requer cuidados especiais em relação à amostra, que não pode ser manuseada com as mãos, pois poder-se-ia transferir matéria orgânica para a amostra, afectando o ângulo de contacto.[44]

Cortaram-se amostras dos *coupons* de cobre, aço inox, HDPE e PVC para a determinação dos ângulos de contacto de 5 gotas de água Milli-Q depositadas nas suas superfícies e subsequente averiguação da hidrofobicidade/hidrofilicidade de cada um destes materiais.

Para estes ensaios foi necessária uma preparação prévia das amostras que consistiu em lavá-las com detergente e secá-las num forno de vácuo (LAB LINE DUO-VAC OVEN). O procedimento no forno de vácuo compreendeu os passos seguintes:

1) Inserir as amostras no forno e fechar a porta;
2) Fechar a torneira do ar;
3) Abrir a torneira da bomba;
4) Abrir a torneira do esgoto;
5) Ligar a bomba;
6) Pressionar a porta até que a leitura do vácuo no manómetro comece a subir;
7) Aguardar que o vácuo atinja 28 in Hg ($P_{absoluta}$ = 5 cm Hg);
8) Aguardar no mínimo 12 horas;
9) Guardar as amostras num exsicador até à medição dos ângulos de contacto.

Recorreu-se a um microscópio (Wild Heerbrugg M3Z), a um foco (Leica Type: MTR31), a um porta-amostras (Ramé hart inc, Model: 100 07 00) e a um programa de análise (*Axisymmetric Drop Shape Analysis – Profile:* ADSA-P *Software*). Para as determinações do ângulo de contacto, utilizou-se o método da gota séssil, que consistiu em:[45]

1) Colocar a amostra no porta-amostras;
2) Ligar o *MatLab* e abrir o ficheiro 'tempos' (>> open ficheirotempos), onde se estabeleceram os parâmetros de análise, nomeadamente os intervalos de tempo em que se tiravam as fotografias;
3) Começar a aquisição de imagem (>>startaquisição), podendo-se ajustar o contraste da imagem;
4) Girar a roda da seringa no sentido horário e largar uma gota de água *Milli-Q* sobre a amostra, e fazer *Enter*;
5) Abrir a imagem (>>digitize) e seleccionar o último ficheiro de imagem;

6) Seleccionar os pontos na imagem, na seguinte ordem: e clicar em +? para obter as coordenadas [x,y];
7) Abrir o ficheiro 'treta.txt' e introduzir as coordenadas pela mesma ordem mas como [y,x] e dar nome ao ficheiro 'output.txt';
8) Para obter os resultados (>>sessile), pressionar *Enter*, e escrever 'treta.txt', em que aparece logo o resultado final da análise, nomeadamente o ângulo de contacto com o respectivo erro;
9) Procurar o ficheiro 'output.txt' para a informação detalhada de cada gota.

Para cada material é necessário em primeiro lugar, fazer uma série de ensaios de "calibração" para a definição e ajuste do tempo adequado a cada determinação, seguidos da determinação do ângulo de contacto. Com os valores obtidos em cada determinação é possível escolher os mais concordantes para cada material.

4.2.5. Arranque da Montagem Laboratorial

Antes de cada arranque da montagem laboratorial foi necessário efectuar os seguintes passos:

1) Verificar se as tubagens se encontram limpas;
2) Verificar que cada elemento da montagem se encontra no local correcto, tal como os *coupons* cilíndricos e planos, a bomba de aquário, etc. (ver esquema da montagem, Figura 9 e Figura 10).
3) Verter o fluido teste no tanque;
4) Abrir a válvula da bomba assim como as válvulas dianteiras e traseiras;
5) Ligar a bomba;
6) Ligar a bomba de aquário;
7) Ligar o termoaquecedor;
8) Corrigir os caudais nas tubagens onde estavam acoplados os tubos sensores DSS, ajustando as válvulas traseiras, de modo a obterem-se velocidades médias de passagem de aproximadamente 0,5 m/s;
9) Monitorizar o sistema até que este se encontre sem ar, por visualização dos tubos cristal (tubos transparentes);
10) Quando o sistema se encontrar sem ar, ligar o sistema de aquisição de dados do DSS, introduzir o número do ensaio no programa, associando uma *sampling rate* (frequência de amostragem) de 30 minutos.

No caso do primeiro arranque, o sistema faz um auto-ajuste no passo 10 para operar à frequência específica do material ou sistema, isto é, à frequência à qual as aquisições de dados apresentem menor ruído.

4.2.6. Ensaios de adesão de biofilme – Procedimento Diário

Como a montagem era automatizada, o procedimento diário consistiu apenas em:

1) Analisar a existência de ar e *fouling* nos tubos cristal;
2) Medir os caudais nas tubagens associadas a cada tubo sensor, e ajustá-los eventualmente com as válvulas traseiras para se obterem velocidades transversais de passagem de aproximadamente 0,5 m/s (de manhã e ao final de tarde);
3) Medir o pH;
4) Medir a condutividade;
5) Parar o programa de aquisição de dados DSS;
6) Guardar os dados adquiridos na véspera;
7) Reiniciar o computador;
8) Ligar o programa de aquisição de dados DSS, definir o ensaio e o *sampling rate* (30 minutos);
9) Verificar as amplitudes e o ruído.

   Foram efectuadas cerca de 48 aquisições de amplitude por dia e o erro médio foi de 0,3 % nos dois ensaios efectuados.

4.2.7. *Cleaning in Place* (CIP)

A *cleaning in place* (CIP) do sistema pode ser química ou mecânica. Ao efectuar uma limpeza mecânica as condições do sistema iriam variar e como tal procedeu-se a uma limpeza química, ácido-base. A limpeza ácida remove as incrustações inorgânicas por dissolução e a básica remove depósitos orgânicos e biológicos adsorvidos. O procedimento para estas limpezas foi o seguinte:

1) Mudar o *sampling rate* para 2 minutos;
2) Remover o fluido teste vertendo água da rede no tanque, mantendo-se o volume de fluido;
3) Proceder à limpeza ácida adicionando à água do tanque ácido nítrico (VWR – 30 % de pureza) de forma a diminuir o pH até 3. Monitorizar por 30 minutos;
4) Remover a solução ácida do tanque vertendo água da rede em aberto para que o volume de fluido se mantenha. Quando o pH se aproximar do da água da rede, fechar o sistema e monitorizar por mais 30 minutos. Se o sinal ainda indicar que existem depósitos, ou mesmo por constatação visual, continuar para o passo 5). Caso contrário, deixar a água recircular até estabilizar o sinal de amplitude;
5) Proceder à limpeza básica adicionando ao tanque soda cáustica (Sodacasa – pureza > 99 %) até pH 14. Monitorizar durante 30 minutos a 1 hora;
6) Remover a solução básica do tanque vertendo água da rede em aberto para que o volume de fluido se mantenha. Quando o pH se aproximar do da água da rede, fechar o sistema e monitorizar por mais 30 minutos;
7) Deixar a amplitude estabilizar.

4.2.8. *Coupons*

Foram utilizados *coupons* cilíndricos e planos para determinar a quantidade de depósitos por unidade da sua área superficial. Cada *coupon* foi pesado numa balança: Mettler Toledo AB204.

4.2.8.1 *Coupons* Cilíndricos

Por análise e tratamento dos dados adquiridos com o DSS, ou mesmo por observação directa dos tubos cristal, escolheram-se os dias para a remoção e pesagem dos *coupons* cilíndricos.

O procedimento usado para os *coupons* cilíndricos foi o seguinte:

1) Alterar o *sampling rate* para 1 h;
2) Remover os *coupons* cuidadosamente para não entrar ar na montagem, fechando as válvulas dianteiras correspondentes ao *coupon* a retirar;
3) Alterar o *sampling rate* para 30 min;
4) Medir os caudais, e caso estes não correspondam a velocidades transversais médias de aproximadamente 0,5 $m \cdot s^{-1}$, ajustá-los com as válvulas traseiras;
5) Secar o *coupon*, durante dois dias (o último num exsicador);
6) Pesar o *coupon* seco com depósito;
7) Lavar o *coupon* com detergente e água em abundância;
8) Secar o *coupon*, durante dois dias (o último num exsicador);
9) Pesar o *coupon* seco sem depósito.

Para comparar os valores das massas obtidas em cada *coupon*, é necessário calcular a massa de biofilme seco por unidade de área do *coupon*. Esta área superficial é dada por:

$$\boldsymbol{A = 2 \times \pi \times L \times R} \qquad \textbf{Eq. 1}$$

4.2.8.2 *Coupons* Planos

O procedimento efectuado para os *coupons* planos consistiu em:

1) Remover o *coupon* cuidadosamente para que este não perdesse depósito;
2) Secar o *coupon*, durante dois dias (o último num exsicador);
3) Pesar o *coupon* seco com depósito;
4) Lavar o *coupon* com detergente e água em abundância;
5) Secar o *coupon*, durante dois dias (o último num exsicador);

6) Pesar o *coupon* seco sem depósito.

A geometria dos *coupons* foi escolhida com base nos *coupons* de cobre e de aço inoxidável comercializados pela Imotron®. Para efeitos de comparação, todos os outros *coupons* tinham a mesma geometria e dimensões semelhantes. Tal como nos *coupons* cilíndricos, foi necessário o cálculo da área de contacto com o fluido teste. Nos *coupons* planos, esta área é dada por uma soma de áreas:

$$A_{total} = 2 \times A_1 + 2 \times A_2 + 2 \times A_3 - 2 \times A_{círculo} + A_{lateral\ cilindrica} \quad \textbf{Eq. 2}$$

Sendo:

$$A_1 = L_1 \times L_2 \quad \textbf{Eq. 3}$$

$$A_2 = L_1 \times L_3 \quad \textbf{Eq. 4}$$

$$A_3 = L_2 \times L_3 \quad \textbf{Eq. 5}$$

$$A_{círculo} = \pi \times R^2 \quad \textbf{Eq. 6}$$

$$A_{lateral\ cilindrica} = 2 \times \pi \times R \times L_3 \quad \textbf{Eq. 7}$$

As dimensões utilizadas para estes cálculos encontram-se na Tabela 6. Na Figura 16 indicam-se as áreas para os cálculos.

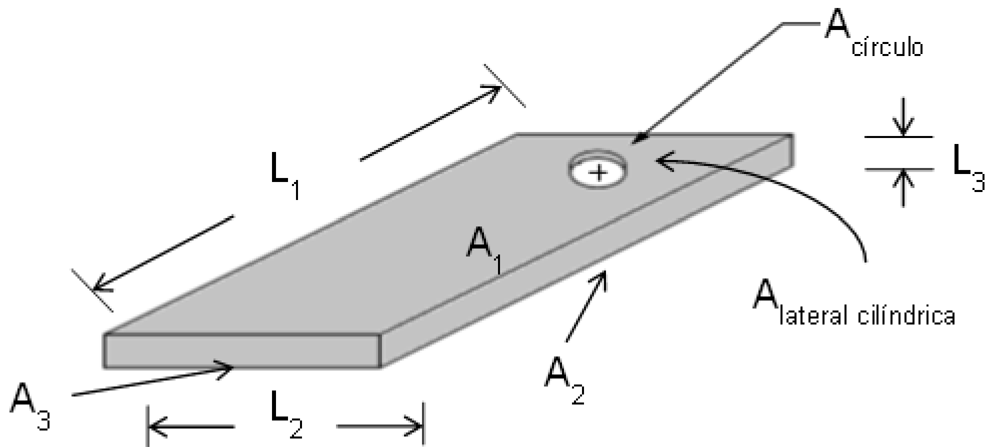


Figura 16 – *Coupon* plano e respectivas áreas.

5. Resultados e Discussão

5.1. Caracterização dos Materiais

Nesta secção apresenta-se a caracterização dos materiais escolhidos para os *coupons* planos (previamente sujeitos a ensaios de adesão/remoção de biofilme), nomeadamente, cobre, aço inoxidável, HDPE, PVC e neoprene, através dos seguintes métodos: Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM), Tomografia Computadorizada de Raios-X, Porosimetria Gasosa e Goniometria.

5.1.1. Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM)

Para se visualizarem as superfícies das amostras de cobre, aço inox, HDPE, PVC e neoprene recorreu-se à Microscopia Electrónica de Varrimento. Com esta metodologia conseguiu-se observar a eventual existência de porosidade superficial e/ou rugosidade, que como vimos anteriormente na secção 3.2 tem uma grande relevância para o desenvolvimento de *biofouling.* O procedimento utilizado encontra-se descrito na secção 4.2.1.

Da Figura 17 à Figura 21 apresentam-se duas fotos de cada um dos materiais dos *coupons* planos, nomeadamente, o cobre (Figura 17), o aço inox (Figura 18), o HDPE (Figura 19), o neoprene (Figura 20) e o PVC (Figura 21).

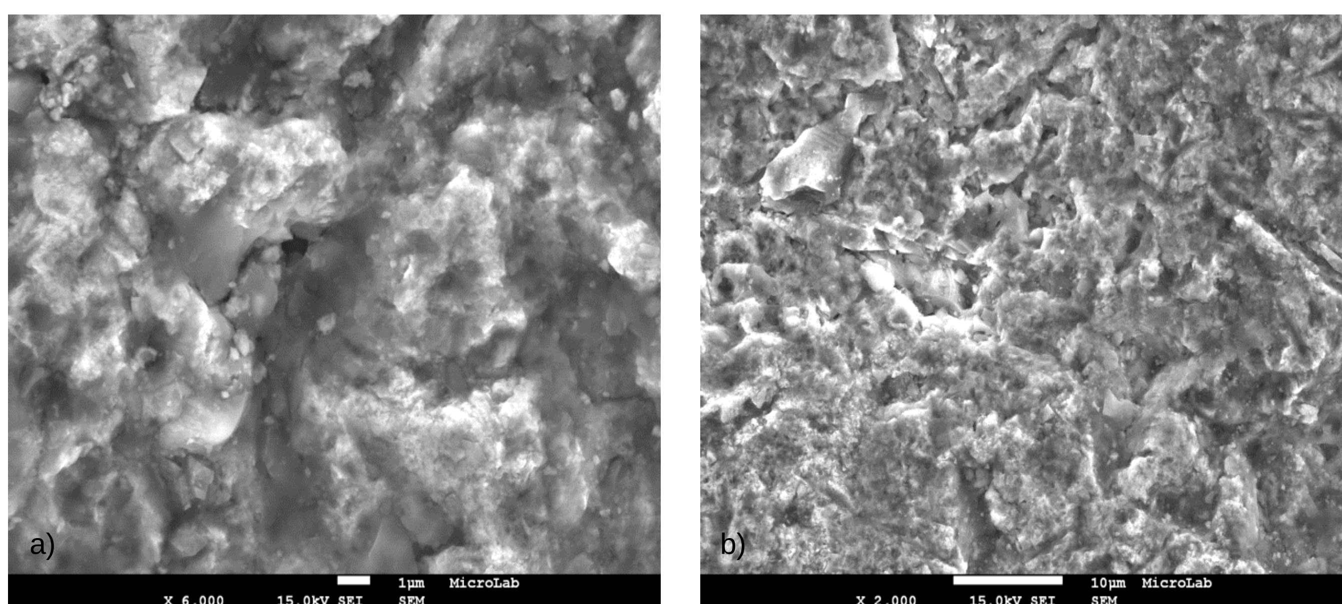


Figura 17 – Imagens SEM do cobre com ampliações: a) x 6000 e b) x 2000.

Na Figura 17, o cobre apresentou elevada rugosidade, encontrando-se depositado na sua superfície uma matéria com estrutura filamentosa que não tem aparência de óxidos, devendo tratar--se de biofilme que não foi completamente removido nas sucessivas lavagens com água e detergente.

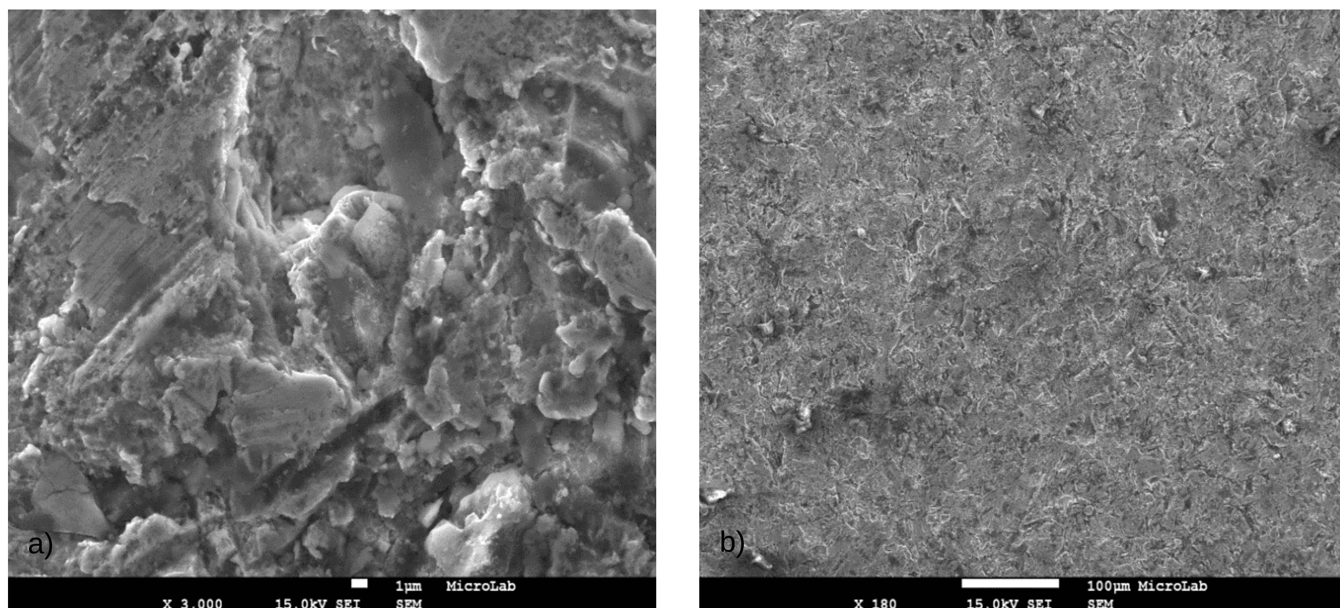
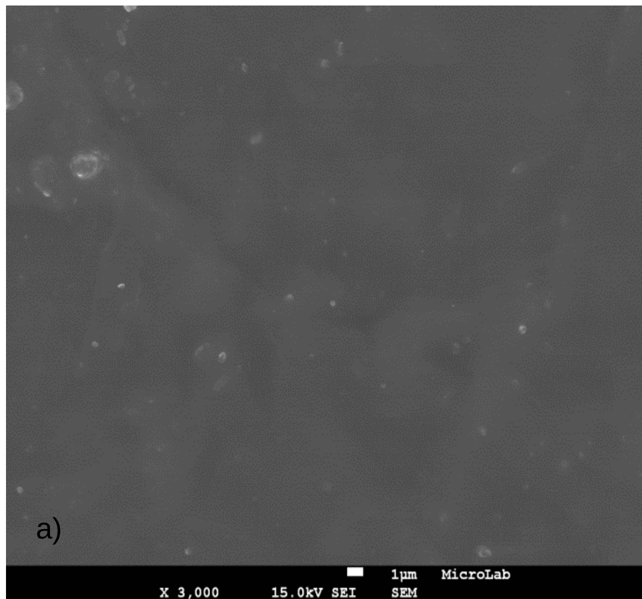


Figura 18 – Imagens SEM do aço inox com ampliações: a) x 3000 e b) x 180.

De acordo com a Figura 18, o aço inox também apresentou elevada rugosidade, podendo esta ser devida a óxidos e/ou *biofouling* na sua superfície. Não foram identificados poros superficiais nos diversos varrimentos efectuados.



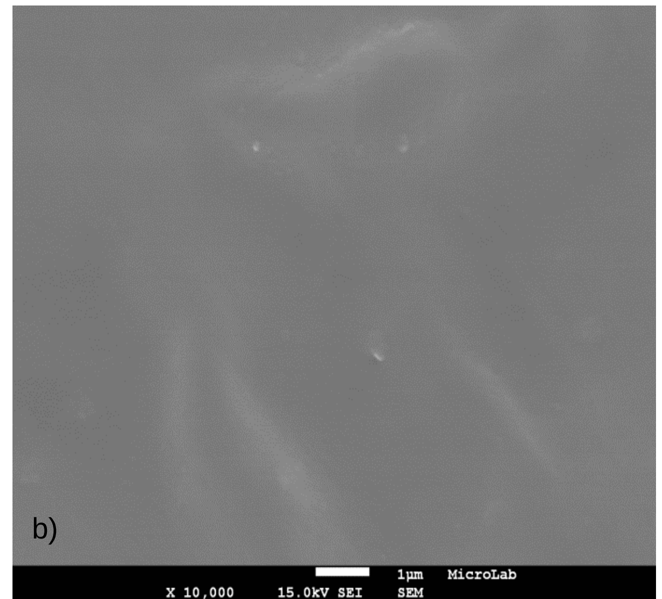
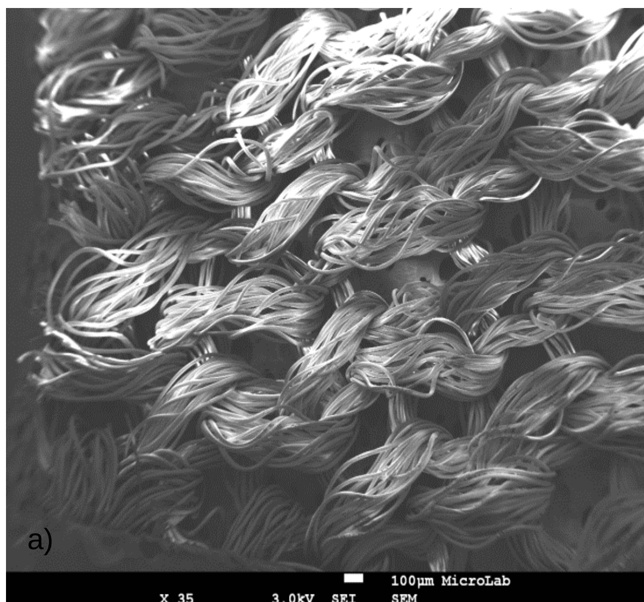


Figura 19 – Imagens SEM do HDPE com ampliações : a) x 3000 e b) x 10000.

Relativamente ao HDPE, observaram-se uns pontos brancos na sua superfície, que deveriam ser sujidades. A sua rugosidade era praticamente nula (material liso sem estrutura) e não apresentou qualquer porosidade superficial, como se pode observar na Figura 19.

.



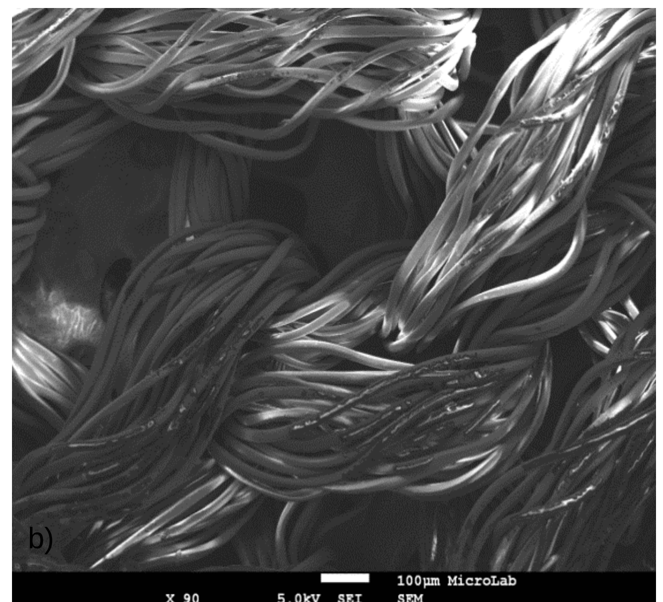


Figura 20 – Imagens SEM do neoprene com ampliações: a) x 35 e b) x 90.

Quanto à Figura 20 que ilustra o neoprene, verifica-se que este apresentou uma estrutura superior com filamentos entrançados. Abaixo desta e por entre as tranças identificou-se uma estrutura espongiforme com uma porosidade significativa (diâmetros de poro ca. 40 μm), daí que se tenha prosseguido o estudo da porosidade do neoprene por Tomografia Computadorizada de Raios-X.

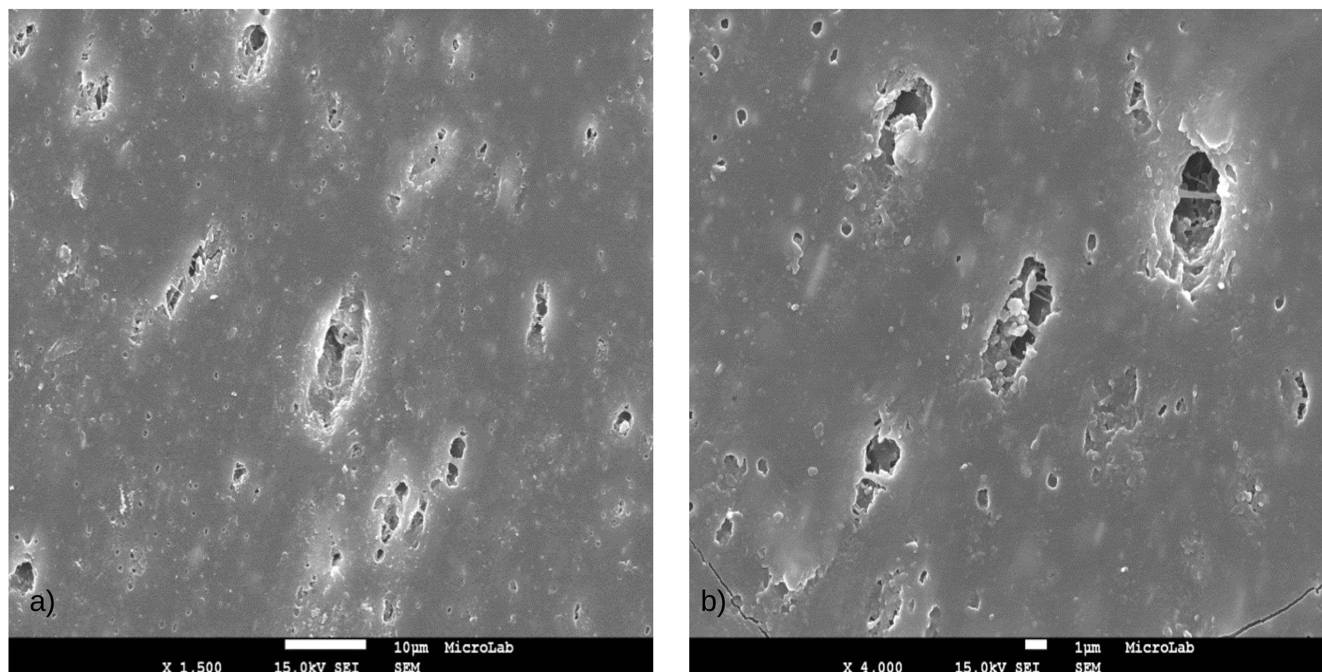


Figura 21 – Imagem SEM do PVC com ampliações: a) x 1500 e b) x 4000.

Observando a Figura 21, conclui-se que apesar do PVC também não apresentar rugosidade significativa, à semelhança do HDPE, detectou-se a existência de porosidade superficial, com diâmetro de poros ca. 5 – 10 μm, que justificaram o seu estudo posterior por Tomografia Computadorizada de Raios-X.

5.1.2. Tomografia Computadorizada de Raios-X

As amostras de neoprene e PVC revelaram porosidade superficial por Microscopia SEM, com diâmetros de poros supostamente adequados para a determinação da porosidade interna por Tomografia Computadorizada de Raios-X (limite de detecção de 5 μm). O procedimento utilizado encontra-se descrito na secção 4.2.2.

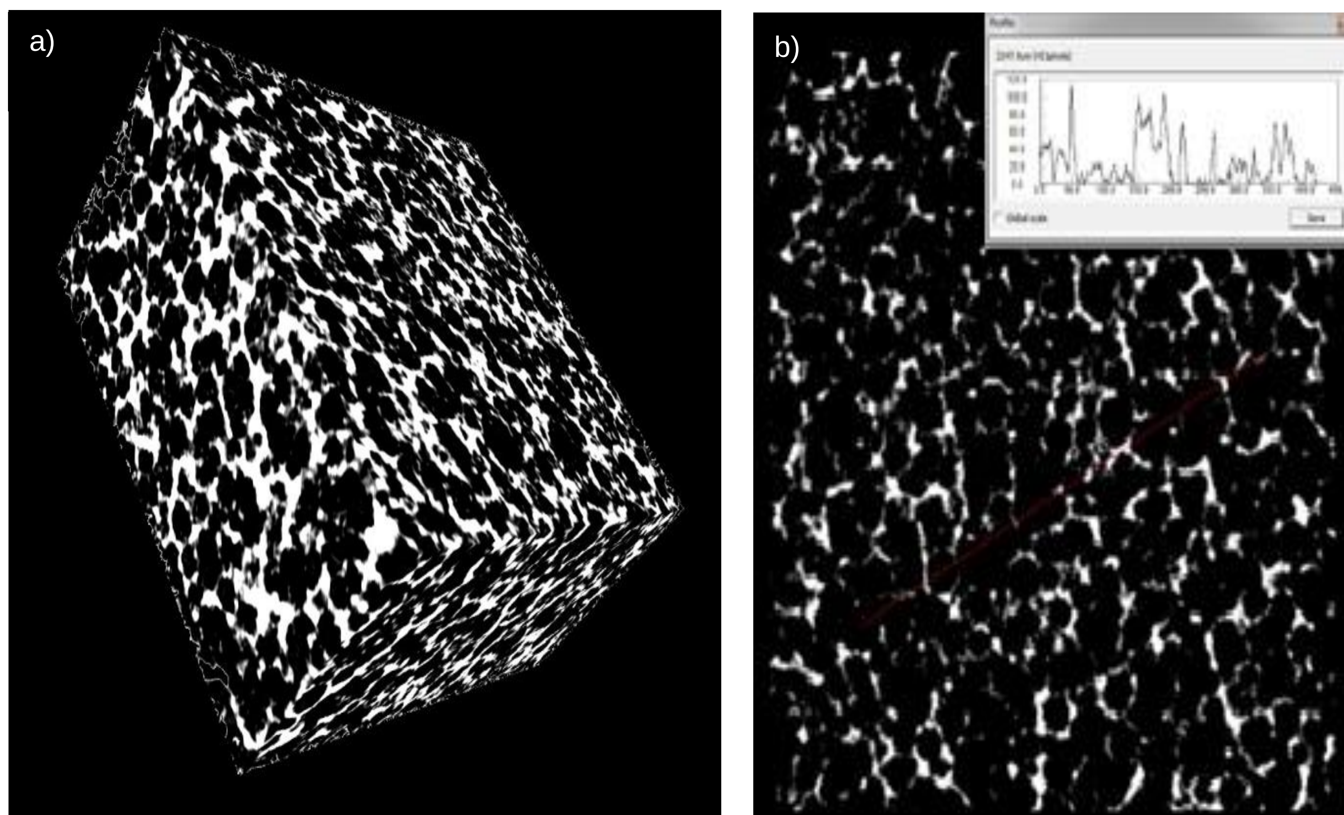


Figura 22 – Tomografia Computadorizada de Raios-X do neoprene (matéria a branco, vazios a preto): a) imagem 3D, b) imagem 2D e densidade aparente.

Na Figura 22, o neoprene revelou ser um material espongiforme, muito poroso sendo a sua porosidade interna fechada (células coalescentes fechadas). Para a estimativa da porosidade interna do neoprene, escolheu-se um volume de controlo de 22,81 mm^3 e definiu-se a escala de cinzento para a distinção entre poros e matéria. A porosidade interna determinada foi de 0,74.

As superfícies externas (tranças) deste material têm composições diferentes da composição interna, talvez devido a compostos como o ferro, usados na sua coloração. As superfícies externas tinham uma densidade aparente inferior ao seu interior e são mais porosas, como constatado em Microscopia Electrónica de Varrimento.

No caso do PVC foram necessárias três aquisições de dados. As primeiras duas apresentaram muito ruído, daí terem sido descartadas. A terceira é apresentada na Figura 23.

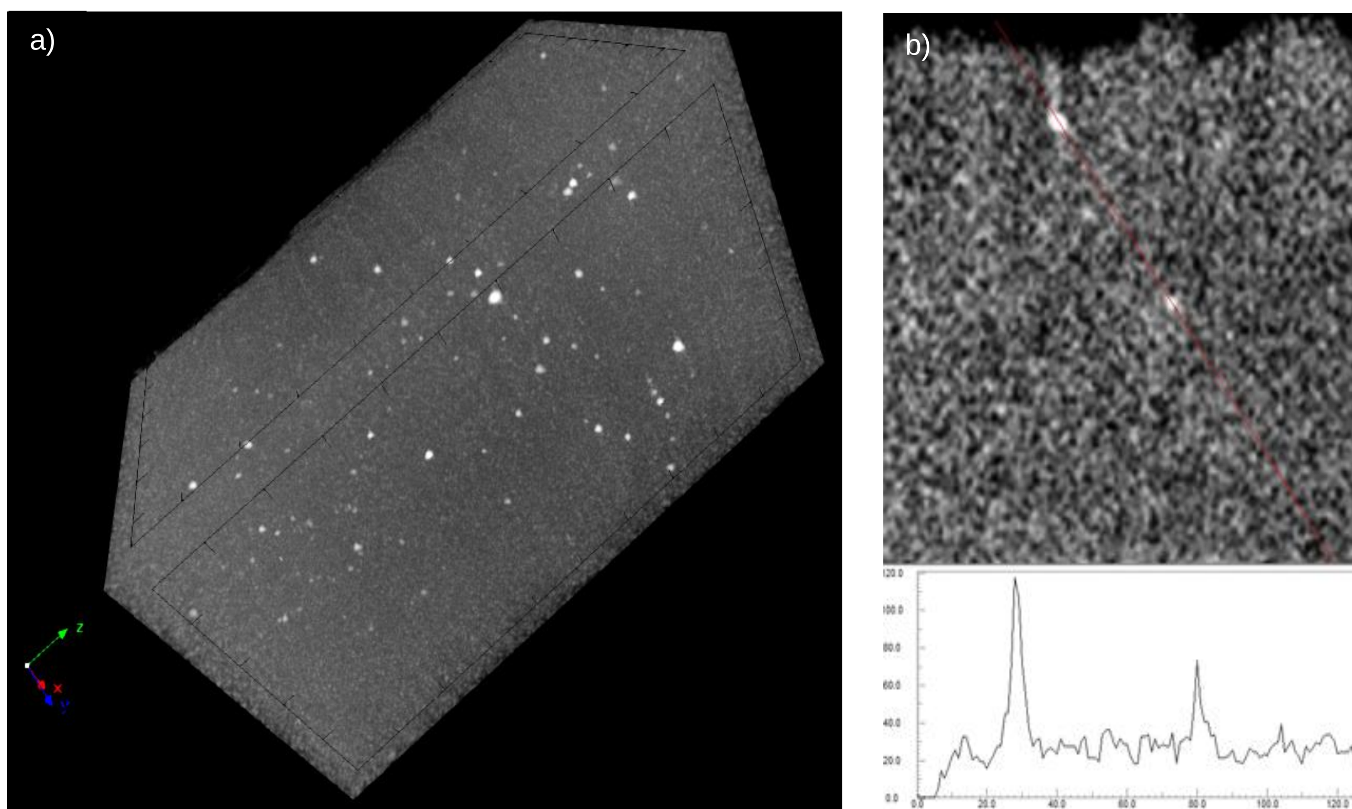


Figura 23 – Tomografia Computadorizada de Raios-X do PVC (matéria a branco, vazios a preto): a) imagem 3D, b) imagem 2D e densidade aparente.

Assim como na Microscopia Electrónica de Varrimento, verificou-se que o PVC era poroso, sendo a porosidade igualmente fechada (como seria de esperar visto tratar-se de um material de construção) à semelhança do neoprene. Na Figura 23 b) observou-se que o PVC continha algumas impurezas, com densidade aparente maior (pontos brancos), possivelmente provenientes do seu processo de fabrico. No entanto, não foi possível determinar a porosidade interna do PVC, pois os poros da amostra tinham dimensões inferiores às do limite de detecção do aparelho (5 µm). Daí ter-se prosseguido o estudo do PVC por Porosimetria Gasosa de forma a eventualmente se determinar a porosidade interna deste material.

5.1.3. Porosimetria Gasosa

Para determinar a porosidade interna da amostra de PVC, recorreu-se ao método da Porosimetria Gasosa. O procedimento encontra-se descrito na secção 4.2.3.

Os volumes de azoto adsorvidos na amostra de PVC foram praticamente desprezáveis, concluindo-se que não houve adsorção substancial de azoto pelo PVC. Assim sendo, não foi possível

determinar a porosidade aberta entre as duas superfícies externas do PVC, concluindo-se unicamente que este não apresentava microporos (diâmetro < 2 nm) ou mesoporos (2 nm < diâmetro < 50 nm).

5.1.4. Goniometria

De forma a poder comparar-se a hidrofilicidade/hidrofobicidade dos materiais dos *coupons* planos, outro parâmetro importante no processo de adesão de biofilme nas superfícies dos materiais, recorreu-se a um goniómetro para a determinação dos ângulos de contacto de amostras de cobre, aço inox, HDPE e PVC. Não se realizaram ensaios para o neoprene devido à sua capacidade de adesão da água. O procedimento para a determinação dos ângulos de contacto encontra-se descrito na secção 4.2.4.

Assim, para cada material apresentam-se as cinco determinações escolhidas da evolução das dez gotas depositadas nas superfícies das amostras de cobre (Figura 24), aço inox (Figura 25), HDPE (Figura 26) e PVC (Figura 27). Para cada um deles, os ângulos de contacto apresentados na Tabela 8 correspondem à média dos valores para os tempos de contacto mais elevados (“patamares”).

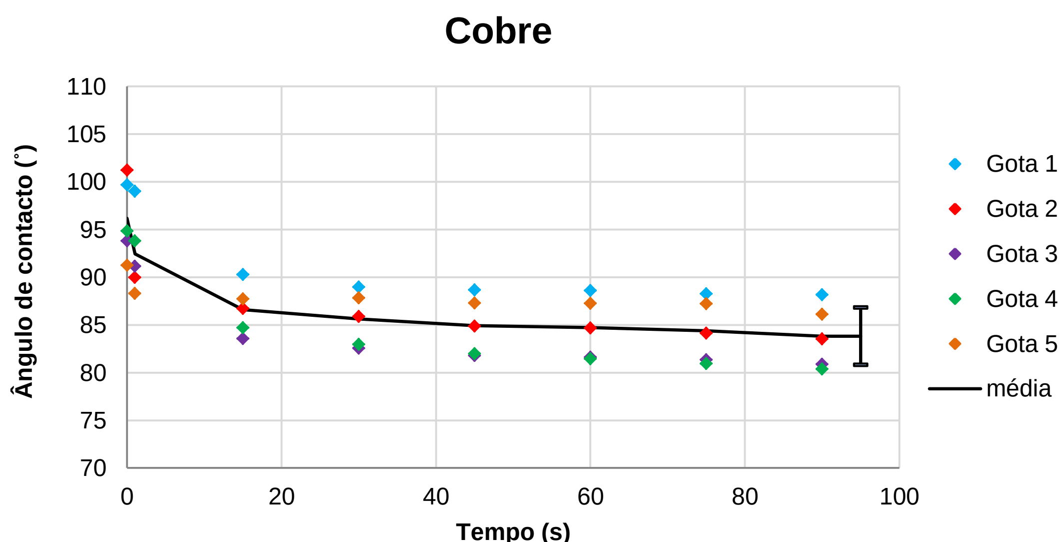


Figura 24 – Determinação do ângulo de contacto do cobre.

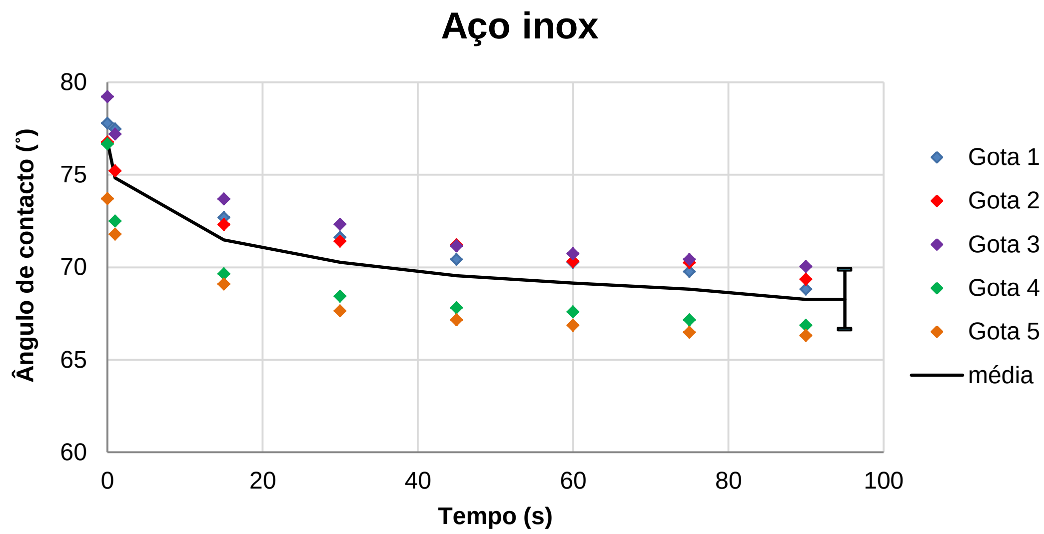


Figura 25 – Determinação do ângulo de contacto do aço inox.

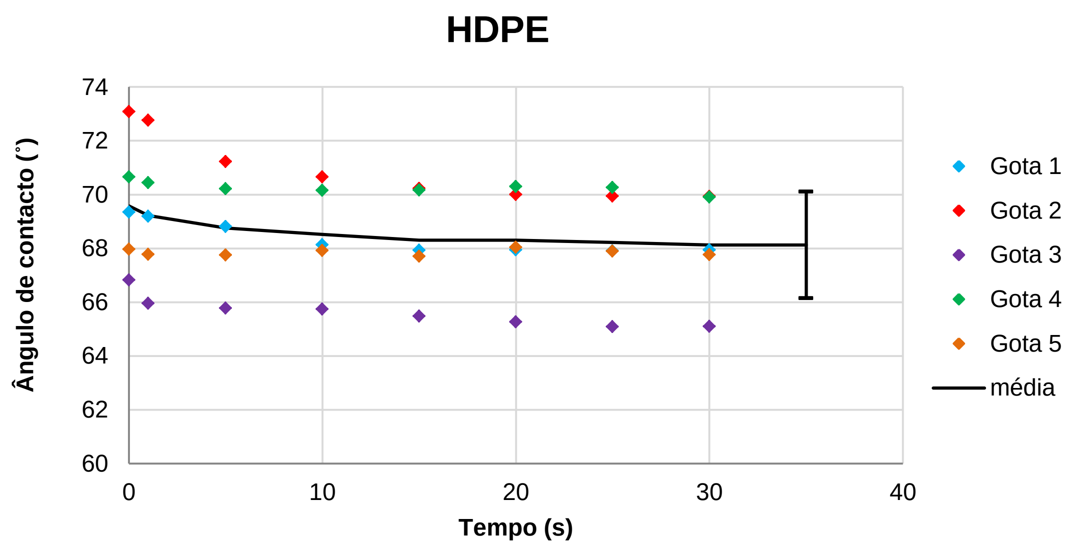


Figura 26 – Determinação do ângulo de contacto do HDPE.

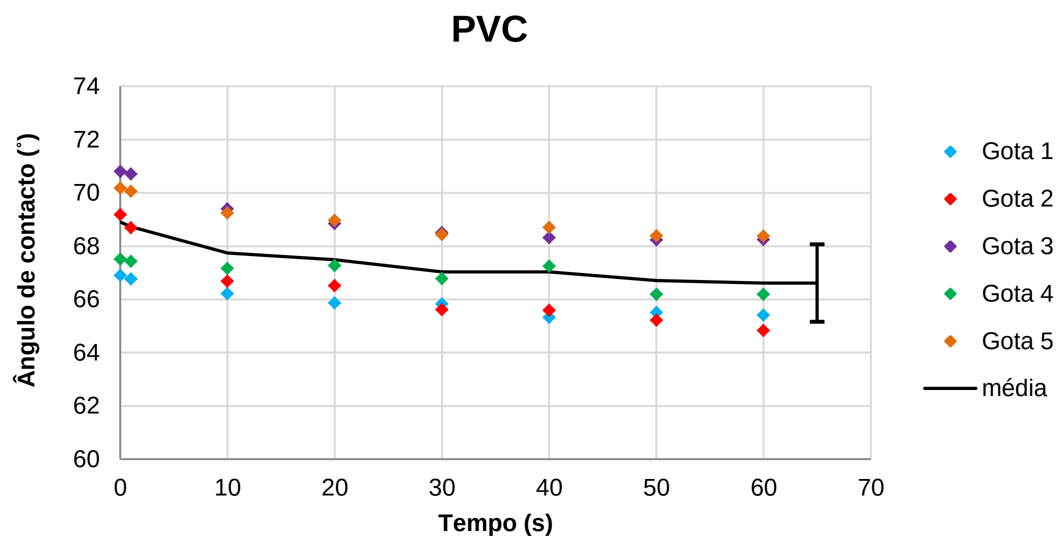


Figura 27 – Determinação do ângulo de contacto do PVC.

Tabela 8 – Ângulos de contacto obtidos para os diferentes materiais dos *coupons* planos.

Material	Ângulo de Contacto (˚)
Cobre	84 ± 3
Aço Inoxidável	68 ± 2
HDPE	68 ± 2
PVC	67 ± 2

Quanto menor o espalhamento da água depositada na superfície de uma amostra tanto maior o ângulo de contacto determinado, ou seja, maior é a hidrofobicidade do material. Apresentam-se fotografias das gotas depositadas sobre cada amostra na Figura 28, a título de curiosidade.

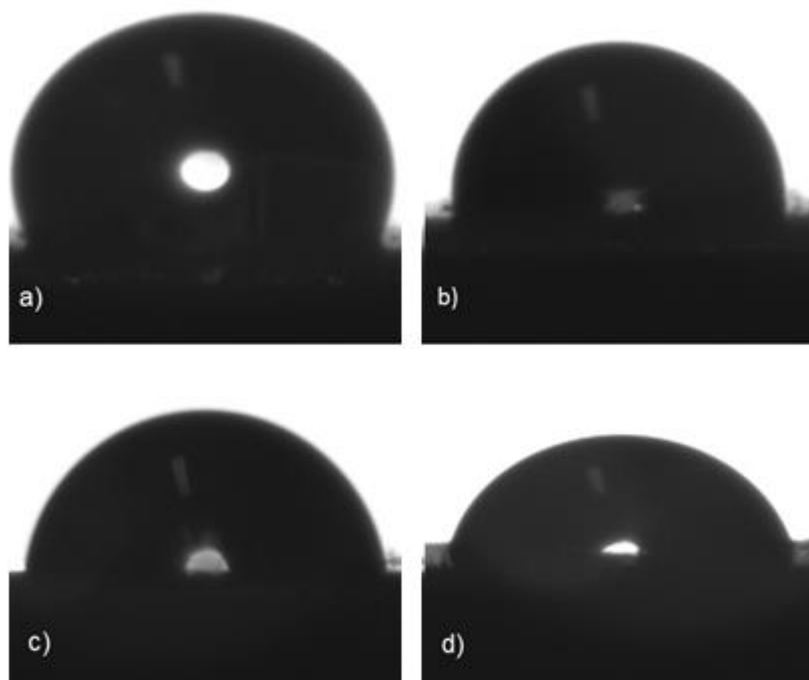


Figura 28 – Fotografias dos ensaios para a determinação dos ângulos de contacto: a) cobre, b) aço inox, c) HDPE e d) PVC.

Relativamente à hidrofobicidade dos quatro materiais, o cobre é nitidamente o mais hidrofóbico (84 º± 3), seguido do aço inoxidável e do HDPE (68 º± 2) e finalmente do PVC (67 º± 2), estes três últimos com ângulos de contacto muito próximos. Portanto, em princípio o cobre seria o material mais susceptível de sofrer adesão de material orgânico e/ou *biofouling*, se a hidrofobicidade fosse o factor preponderante neste fenómeno.

5.2. Monitorização de *biofouling*

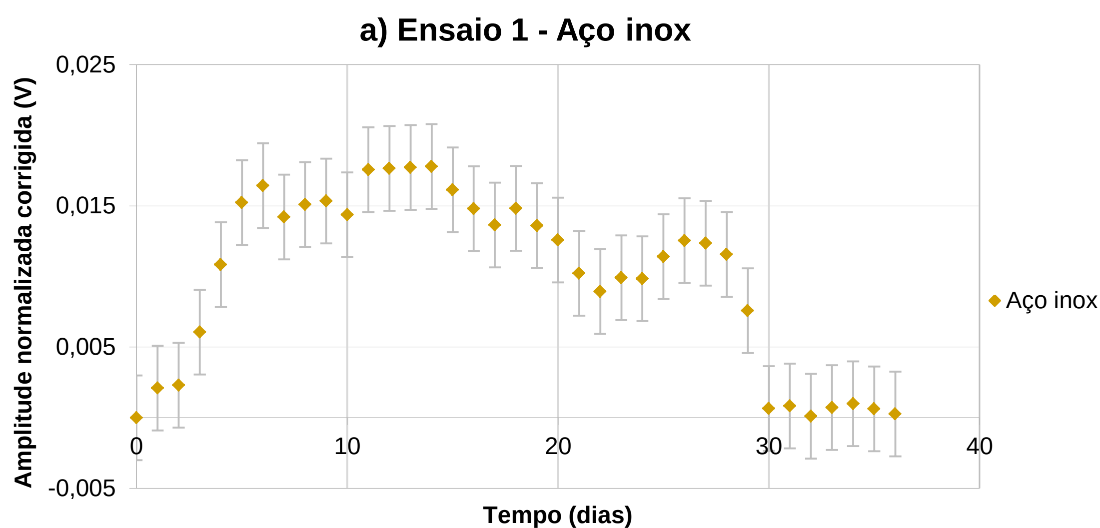
De seguida, apresentam-se os resultados experimentais de dois ensaios de adesão/remoção de biofilme realizados na montagem laboratorial esquematizada na Figura 9 e na Figura 10. Para além destes, foram realizados ensaios de controlo com água da rede. Contudo, estes últimos não são apresentados nesta tese por serem relativos a casos intermédios, que não trariam informação adicional.

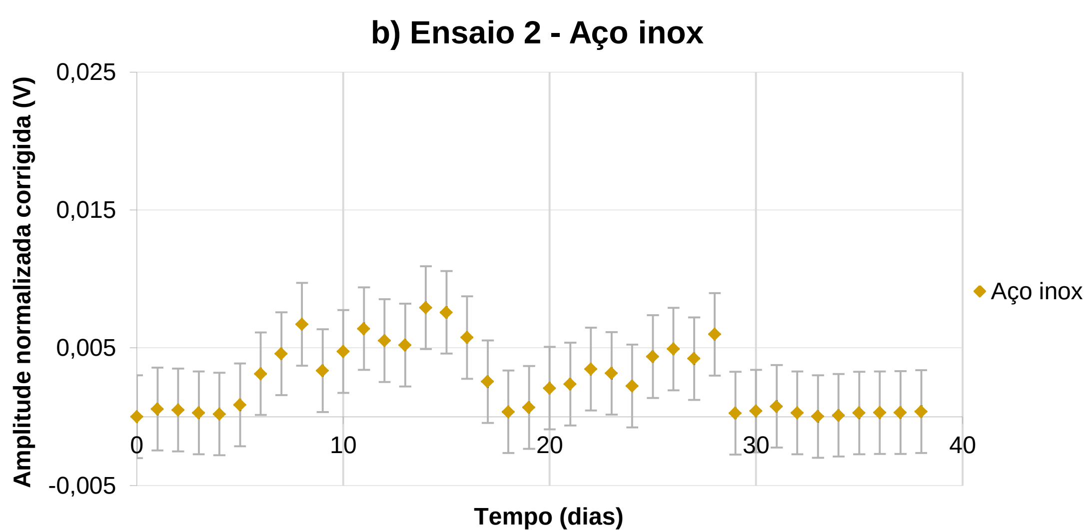
As amplitudes de vibração registadas ao longo dos dois ensaios foram normalizadas por subtracção da amplitude de vibração no instante inicial e devidamente corrigidas para uma temperatura de 25°C.

5.2.1. Adesão de biofilme nos tubos sensores DSS

Foram realizados dois ensaios de adesão de biofilme nos tubos sensores DSS. É de notar que no ensaio 1, o fluido teste encontrava-se mais concentrado do que no ensaio 2, dado que a sua cor era mais intensa (Tabela 7).

Na Figura 29 apresentam-se os ensaios realizados para o tubo sensor DSS de aço inox.





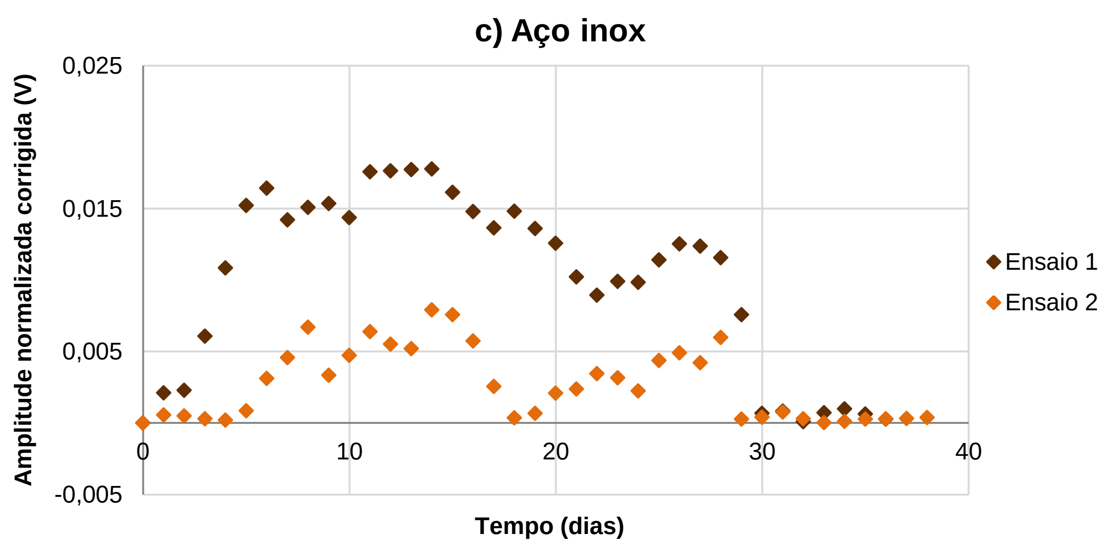


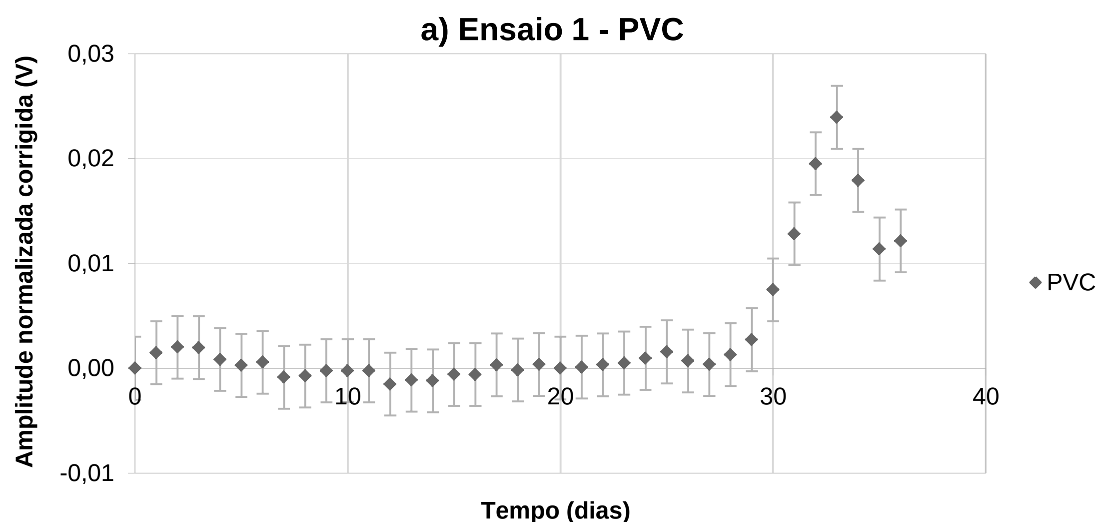
Figura 29 – Amplitudes de vibração normalizadas corrigidas para o tubo sensor DSS de aço inox: a) ensaio 1; b) ensaio 2; c) ensaios 1 e 2.

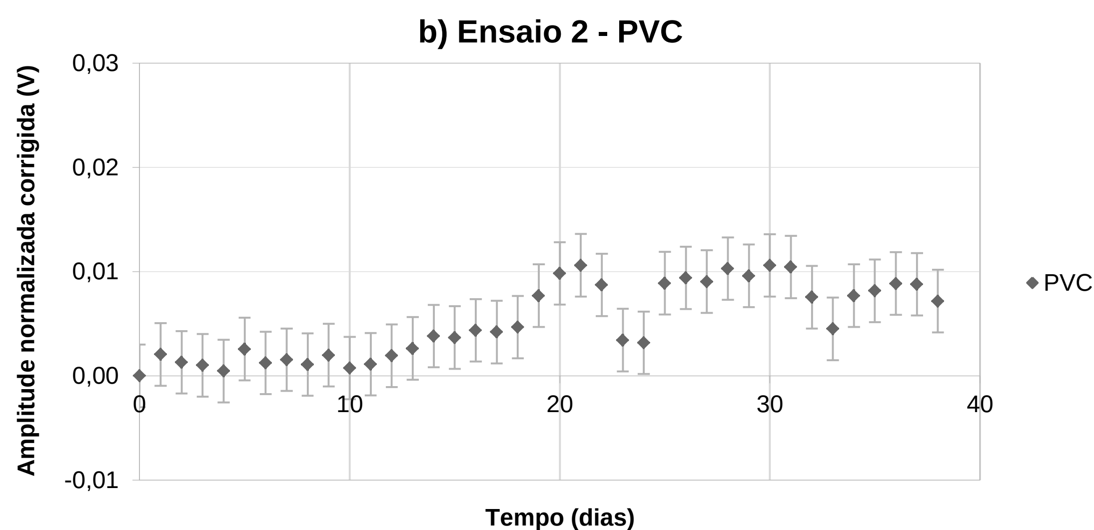
Após o tratamento dos dados para o ensaio 1 e o tubo sensor de aço inox, representou--se a evolução das amplitudes de vibração médias diárias corrigidas a 25 ˚C e normalizadas com o tempo, Figura 29 a). Verifica-se que inicialmente houve um desenvolvimento acentuado de biofilme até ao dia 6, um patamar estável até ao dia 14, seguido de um decréscimo de sinal suave até ao dia 29 e que no dia 30 houve uma descida abrupta que se manteve até ao final do ensaio. Estes resultados estão de acordo com a teoria da formação de biofilme[25][26] esquematizada na Figura 8, onde numa fase inicial, dá-se a adesão de células na superfície, seguida de um desenvolvimento da estrutura do biofilme (até ao dia 14). Subsequentemente, a maturação é atingida e as camadas mais externas do biofilme libertam células de modo a colonizar outras superfícies (até ao dia 29).

As tendências das amplitudes de vibração normalizadas corrigidas no tubo sensor DSS de aço inox nos ensaios 1 e 2 (Figura 29 a) e Figura 29 b)) são claramente semelhantes e estão de acordo com a teoria da formação do biofilme: crescimento inicial, estabilização e interrupção do sinal a partir do dia 29 (Figura 29 c)).

Por outro lado, as amplitudes de vibração do ensaio 1 são geralmente cerca do dobro das amplitudes de vibração do ensaio 2 correspondente, muito provavelmente devido à água do ensaio 1 apresentar uma concentração de microrganismos cerca do dobro da do ensaio 2.

Na Figura 30 apresentam-se os mesmos ensaios realizados para o tubo sensor DSS de PVC.





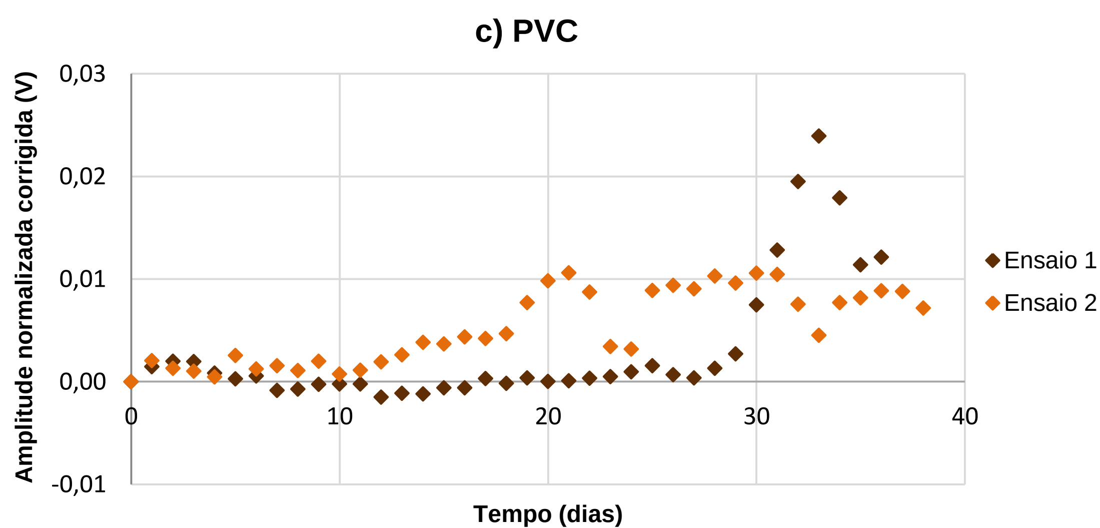


Figura 30 – Amplitudes de vibração normalizadas corrigidas para o tubo sensor DSS de PVC: a) ensaio 1; b) ensaio 2; c) ensaios 1 e 2.

Após o tratamento de dados para o ensaio 1 e o tubo sensor de PVC, representou-se a evolução das amplitudes de vibração médias diárias corrigidas a 25 ˚C e normalizadas com o tempo, Figura 30 a). Verifica-se que somente no dia 29 ocorreu a proliferação do biofilme, sendo o estado de maturação atingido no dia 33. Estes resultados indicam que o tubo sensor de PVC é aparentemente menos sensível ao desenvolvimento do biofilme do que o de aço inoxidável.

A evolução das amplitudes de vibração registadas no ensaio 2 para o tubo sensor DSS de PVC apresenta-se na Figura 30 b). A evolução do sinal adquirido neste ensaio não é semelhante à observada no ensaio 1 correspondente: o sinal foi praticamente nulo nos primeiros dias em ambos os ensaios, mas apesar do fluido teste no ensaio 2 ser menos concentrado, a adesão e o crescimento do biofilme deu-se mais cedo (dia 11), talvez à existência de um consórcio microbiano com maior afinidade para o PVC ou à lavagem deficiente das tubagens entre os ensaios 1 e 2. Nos dias 23 e 24 a amplitude de vibração desceu provavelmente devido a remoção mecânica quando removidos os cupões, após o qual apresentou um comportamento constante, não se degradando o biofilme até ao final do ensaio.

Na Figura 30 c), observa-se que no final do ensaio 1 as amplitudes de vibração normalizadas corrigidas, à semelhança do tubo sensor de aço inox, são cerca do dobro das do ensaio 2, muito provavelmente devido à água do ensaio 1 apresentar uma concentração de microrganismos cerca do dobro da do ensaio 2.

5.2.2. Adesão de biofilme nos *coupons* cilíndricos

Como mencionado na secção 4.2.8.1, foram retirados os *coupons* cilíndricos correspondentes a cada tubo sensor com alguma periodicidade, para pesá-los e determinar a massa de biofilme aderido e a eficácia dos *coupons* cilíndricos de aço inox e de PVC.

Para os ensaios 1 e 2 obtiveram-se as massas secas por unidade de área superficial dos *coupons* cilíndricos de aço inox e de PVC representados na Figura 31 a) e b), respectivamente.

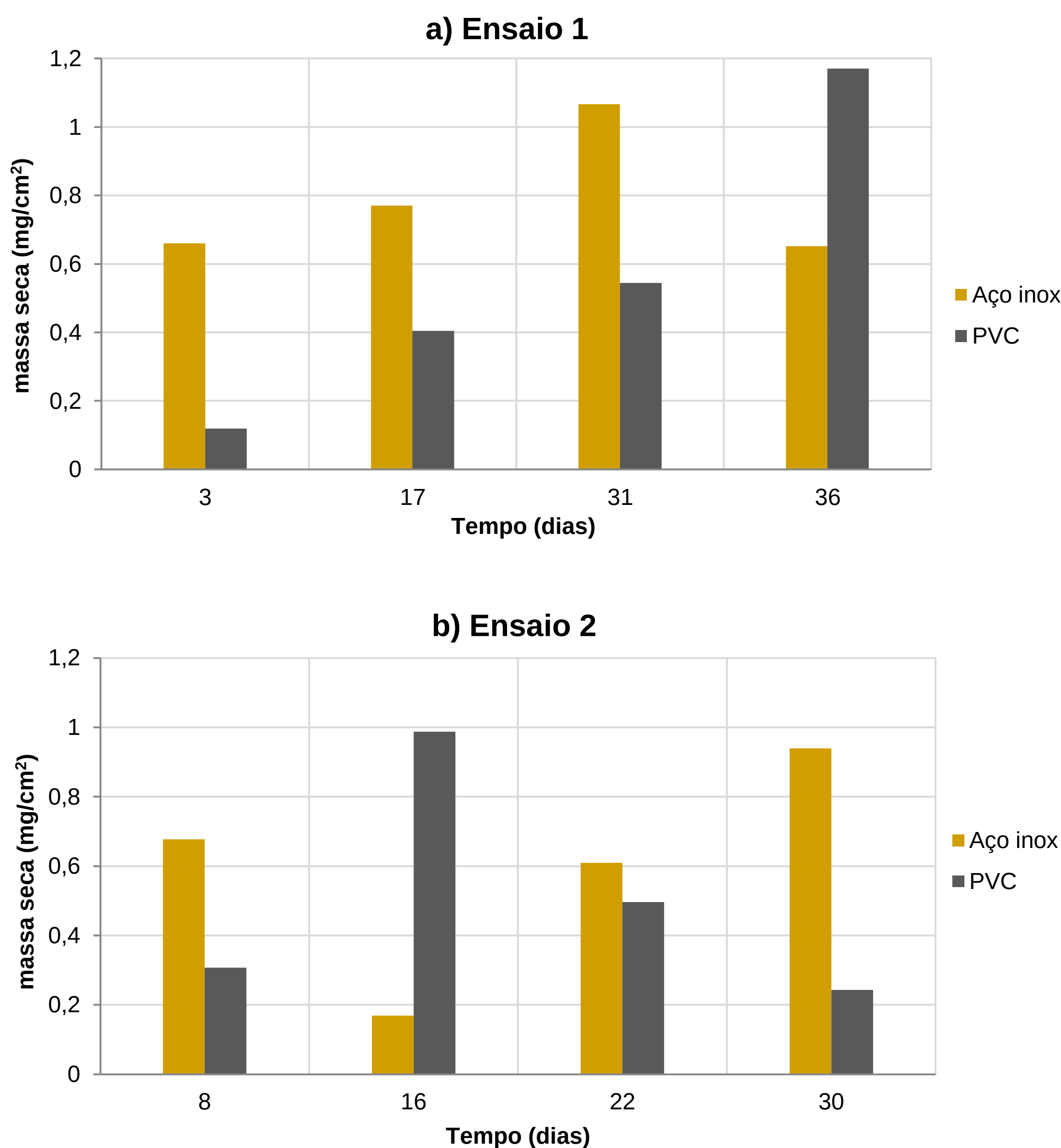


Figura 31 – Massas secas de biofilme aderido por unidade de área superficial nos *coupons* cilíndricos de aço inox e de PVC ao longo do tempo: a) ensaio 1, b) ensaio 2.

No ensaio 1, Figura 31 a), verifica-se que, à semelhança das Figura 29 a) e Figura 30 a) e, nos dias 3 a 31 ocorreu um crescimento de biofilme considerável no aço inox em comparação com o PVC, invertendo-se essa tendência a partir do dia 31. De acordo com as observações de Microscopia Electrónica de Varrimento, o aço inox tinha uma rugosidade efectiva bastante superior à do PVC, daí apresentar uma maior massa de biofilme aderido, com excepção do dia 36. As massas obtidas no dia 36 confirmam que o biofilme aderido no aço inox, tal como referido na secção 5.2.1, atingiu um estado de maturidade seguido da migração de células o que se traduziu em massas de biofilme aderido inferiores. Por outro lado, o biofilme aderido no PVC no fim do ensaio 1 (dia 36) estava finalmente em fase de crescimento acentuado.

No ensaio 2, Figura 31 b), verifica-se também que o aço inoxidável foi o material no qual a adesão e o crescimento de biofilme ocorreu mais precocemente, de acordo com o observado nestes ensaios na Figura 29 b) e na Figura 30 b). Contudo, a massa seca obtida no dia 16 sobre o aço inox foi inesperadamente baixa (mínimo) muito provavelmente devido a erros de pesagem.

As massas de biofilme aderido apresentam uma relação de proporcionalidade directa com a amplitude de vibração registada no dia em que o *coupon* foi removido, tal como já observado por Pereira.[39]

Na Figura 32 apresentam-se as amplitudes de vibração normalizadas corrigidas a 25ºC, em função das massas secas de biofilme aderido nos *coupons* cilíndricos de aço inox (a)) e de PVC (b)) para os ensaios 1 e 2, respectivamente, tendo-se desprezado os pontos de amplitudes de vibração quase nulas e portanto sem significado físico dados os erros significativos associados.

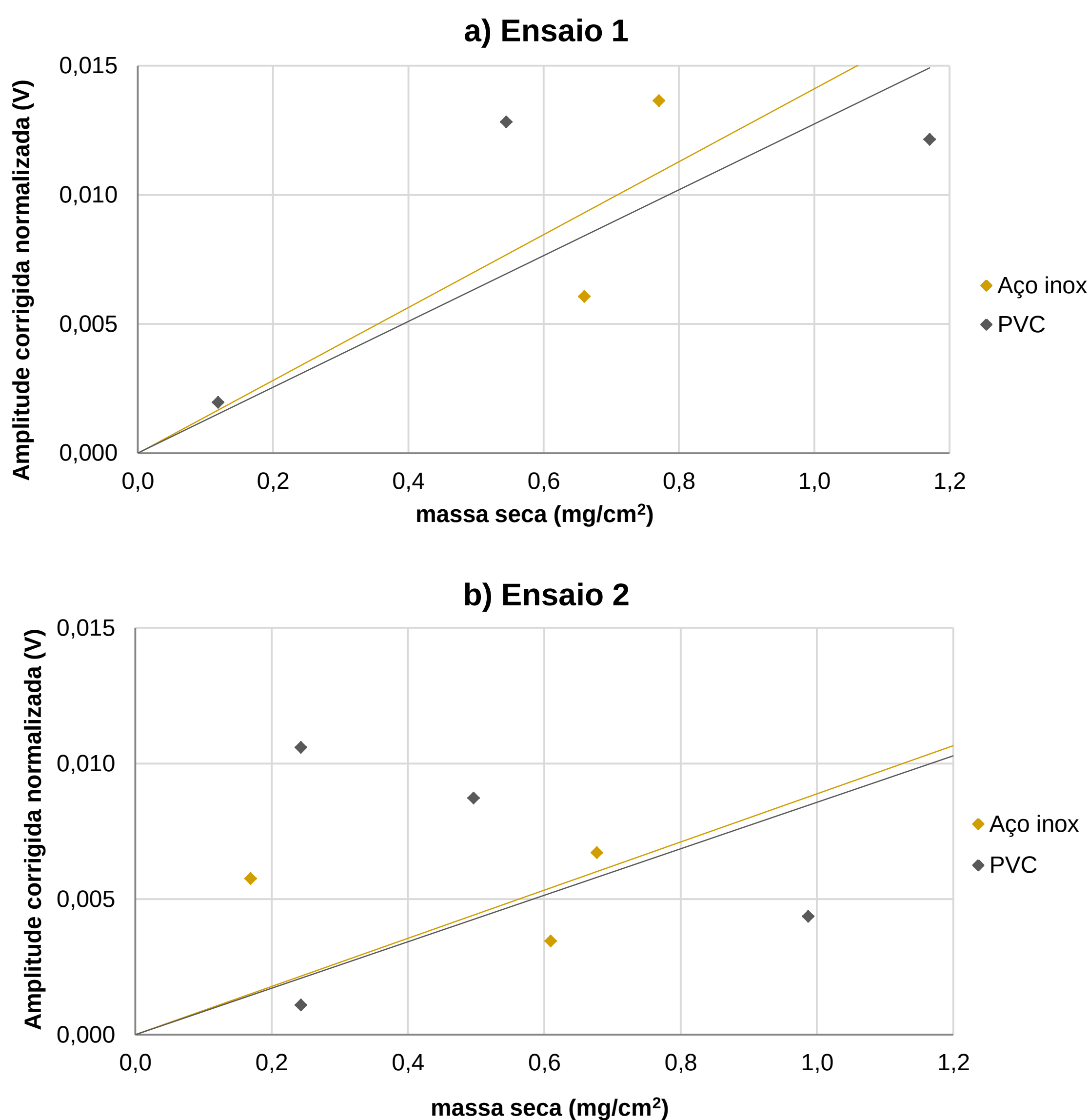


Figura 32 – Amplitudes de vibração nos tubos sensores DSS em função das massas secas obtidas nos respectivos *coupons* cilíndricos de aço inox e de PVC: a) ensaio 1; b) ensaio 2.

Quanto ao ensaio 1, Figura 32 a), verifica-se que apesar do fraco coeficiente de correlação, em ambos os ensaios dos materiais dos *coupons* cilíndricos, os pontos experimentais sugerem uma relação de proporcionalidade directa entre a massa seca de biofilme e a amplitude de vibração normalizada corrigida dos sensores, como era esperado.

No ensaio 2, Figura 32 b), os dados experimentais não se ajustam tão bem a uma relação linear, possivelmente devido ao fluido teste ser menos contaminado.

Surpreendentemente, o quociente entre os declives das correlações *Amplitude normalizada corrigida = f (massa de biofilme aderido)* para o aço inox e o PVC é praticamente unitário em ambos os ensaios, isto é, a correlação linear entre as amplitudes de vibração nos tubos sensores DSS e as

massas secas de biofilme aderido nos *coupons* cilíndricos respectivos é única, independentemente do material.

Quaisquer desvios à linearidade das representações das amplitudes de vibração normalizadas corrigidas a 25 °C em função das massas secas de biofilme observados podem dever-se a erros de pesagem ou de amostragem, dado que na montagem laboratorial não havia espaço físico para colocar *coupons* suficientes de forma a obter-se uma média das massas secas pesadas. Por outro lado, a remoção dos *coupons* cilíndricos implicava uma interferência na montagem, e consequentemente nos tubos sensores DSS, e apesar de todos os cuidados talvez se tenham obtido leituras erróneas das amplitudes de vibração devido à presença de ar nos tubos sensores.

Determinaram-se o número de *Reynolds*, *Re*, e as tensões de corte nas superfícies dos *coupons* cilíndricos, τ_o, com base nas definições do número de *Reynolds* e do factor de atrito:

$$\boldsymbol{Re} = \frac{\boldsymbol{\rho} \times \boldsymbol{D} \times \boldsymbol{v}}{\boldsymbol{\mu}} \qquad \textbf{Eq. 8}$$

$$\boldsymbol{f} = \frac{\boldsymbol{F_k}}{\boldsymbol{E_k} \times \boldsymbol{A_k}} = \frac{\boldsymbol{\tau_0} \times \boldsymbol{\pi} \times \boldsymbol{D} \times \boldsymbol{L}}{{}^{1}\!/_{2} \times \boldsymbol{\rho} \times \boldsymbol{v}^2 \times \boldsymbol{\pi} \times \boldsymbol{D} \times \boldsymbol{L}} = \frac{\boldsymbol{\tau_0}}{{}^{1}\!/_{2} \times \boldsymbol{\rho} \times \boldsymbol{v}^2} \qquad \textbf{Eq. 9}$$

Admitindo que o fluido teste apresentava a densidade e a viscosidade da água a 25ºC, recorrendo a uma tabela de rugosidades absolutas[46] e ao diagrama de *Moody*[47], calcularam-se os factores de atrito e as tensões de corte nas superfícies do aço inox e do PVC, que se apresentam na Tabela 9. Visto que os números de *Reynolds* em ambos os casos são superiores a 3×10^3, conclui-se que o regime de circulação em ambos os *coupons* cilíndricos era turbulento.

Tabela 9 – Factores de atrito e tensões de corte nas superfícies dos *coupons* cilíndricos de aço inox e PVC.

Material	***D* (mm)**	**ε[46] (μm)**	**ε/D**	***v* (m/s)**	**$Re \times 10^{-3}$**	***f***	**τ_o (Pa)**
Aço inox	8	45	$5,6 \times 10^{-3}$	0,5	4,5	0,011	1,37
PVC	10	1,5	$1,5 \times 10^{-4}$	0,5	5,6	0,009	1,12

No ensaio 1 (Figura 31 a)), as massas de biofilme aderido nos *coupons* cilíndricos é, em geral maior no aço inox do que no PVC, o que é concordante com a ordem dos factores de atrito e das tensões de corte superficiais apresentados na Tabela 9: $f_{\text{aço inox}} > f_{\text{PVC}}$ e $\tau_{o,\text{aço inox}} > \tau_{o,\text{PVC}}$.

No ensaio 2 (Figura 31 b)) a ordem das massas aderidas, com excepção do dia 16, $m_{\text{aço inox}} > m_{\text{PVC}}$, que coincide também com a ordem dos factores de atrito e das tensões de corte superficiais.

5.2.3. Adesão de biofilme nos *coupons* planos

Como mencionado na secção 4.2.8.2, foram retirados os *coupons* planos de cobre, aço inox, HDPE, PVC e neoprene com alguma periodicidade (dias 3, 17, 30, 31 e 36 no ensaio 1 e dias 8, 16, 22, 24 e 32 no ensaio 2), de preferência nos dias em que se removeram os *coupons* cilíndricos, para se pesarem as massas secas de biofilme aderido em cada *coupon*, testando assim a eficácia de cada material seleccionado neste trabalho para a detecção de *biofouling*.

Para os ensaios 1 e 2, as massas secas de biofilme aderido nos *coupons* planos encontram-se representadas na Figura 33 a) e b), respectivamente.

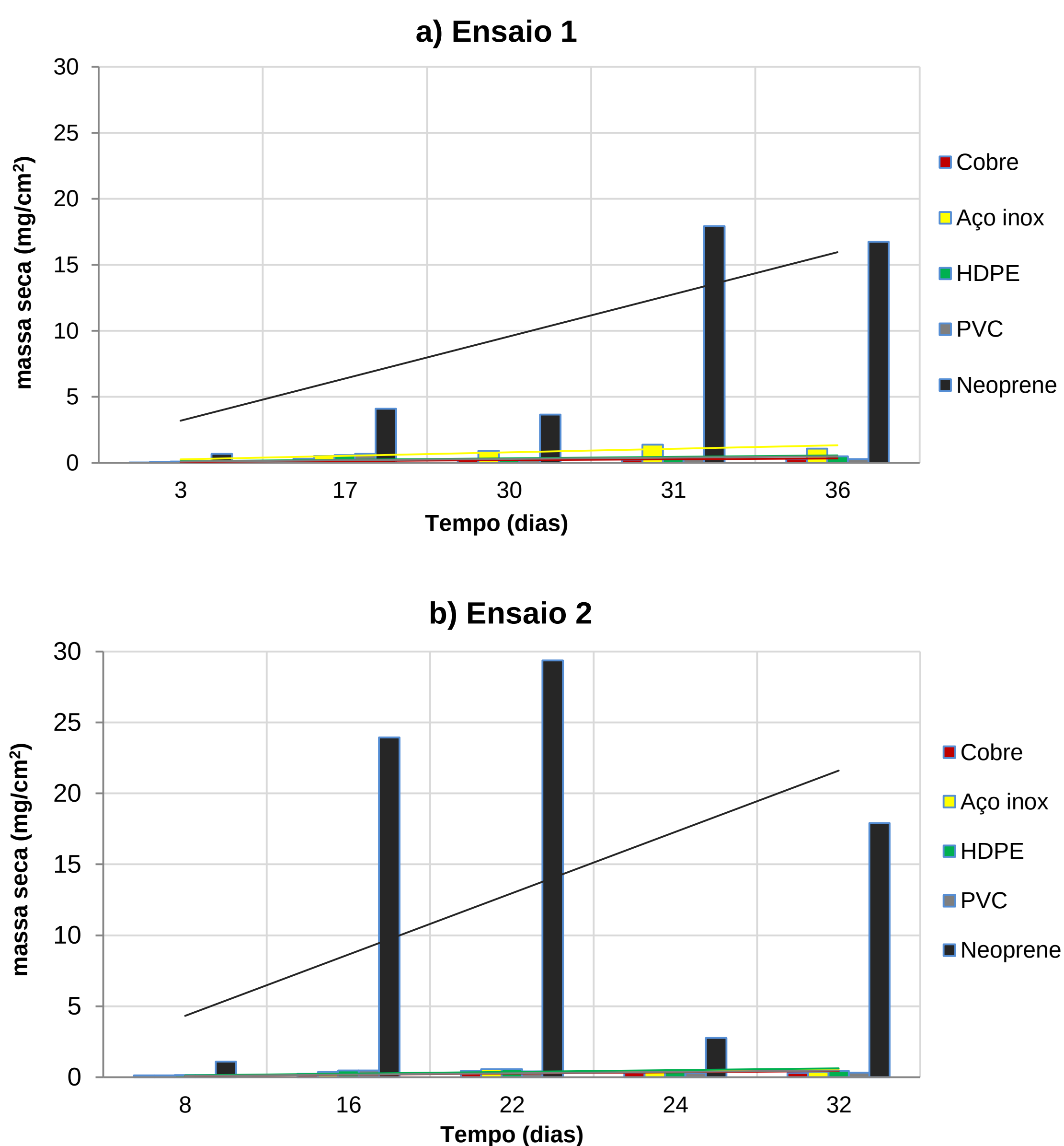


Figura 33 – Massas secas de biofilme aderido por unidade de área superficial nos *coupons* planos: a) ensaio 1, b) ensaio 2.

Em ambos os ensaios, 1 (Figura 33 a)) e 2 (Figura 33 b)), observa-se que o *coupon* plano de neoprene apresentou elevadíssimas massas de biofilme aderido e curiosamente mais elevadas no ensaio 2, apesar da menor contaminação do fluido teste. Para uma clara visualização dos resultados dos restantes *coupons* planos, excluíram-se os dados relativos ao neoprene na Figura 34.

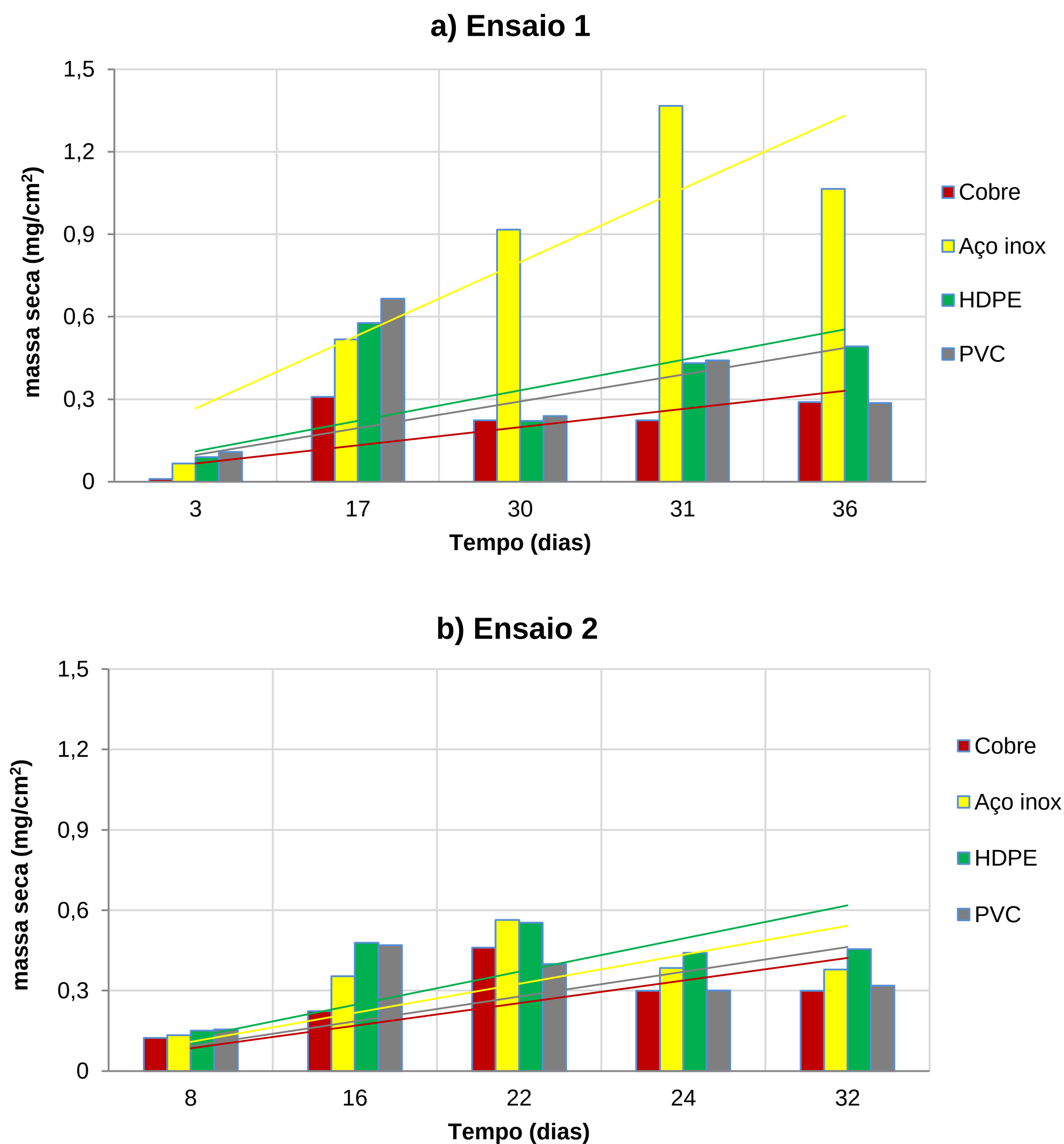


Figura 34 – Massas secas de biofilme aderido por unidade de área superficial nos *coupons* planos, excluindo o de neoprene: a) ensaio 1, b) ensaio 2.

No ensaio 1 (Figura 34 a)), observa-se o aumento das massas secas de biofilme aderido por unidade de área superficial de todos os materiais, sugerindo o crescimento de biofilme com o tempo. Todavia, tanto para o aço inox como para o PVC, as massas obtidas no dia 36 foram inferiores às do dia 31, indicando que os biofilmes atingiram a maturação e as células nas camadas exteriores destes migraram para colonizar outras zonas.

No ensaio 2 (Figura 34 b)), o aumento das massas secas de biofilme aderido por unidade de área superficial foi relativamente baixa na primeira semana, só se tornando evidente nos dias 8, 16 e 22. As massas de biofilme aderido nos *coupons* planos foram inferiores às do ensaio 1, especialmente nos *coupons* de aço inox, talvez devido ao fluido teste no ensaio 2 estar menos contaminado. No dia 24 ocorreu um decréscimo das massas de biofilme aderido, talvez porque a remoção de *coupons* 2 dias antes tenha interferido no fluido do aquário, não tendo havido tempo suficiente para se restabelecer o equilíbrio.

Para os *coupons* planos, não foi possível determinar os factores de atrito e as tensões de corte superficiais visto não se conhecer rigorosamente a velocidade de passagem do fluido adjacente às superfícies dos *coupons* planos, cuja orientação relativamente à direcção do fluido não era fixa (paralela, perpendicular ou intermédia).

Apesar das diferentes condições de temperatura, geometria dos *coupons* (cilíndricos e planos) e velocidades de passagem nas tubagens e no aquário, é interessante comparar os *coupons* cilíndricos e planos de aço inox (Figura 35) e de PVC (Figura 36), colocados nas tubagens e no aquário, respectivamente.

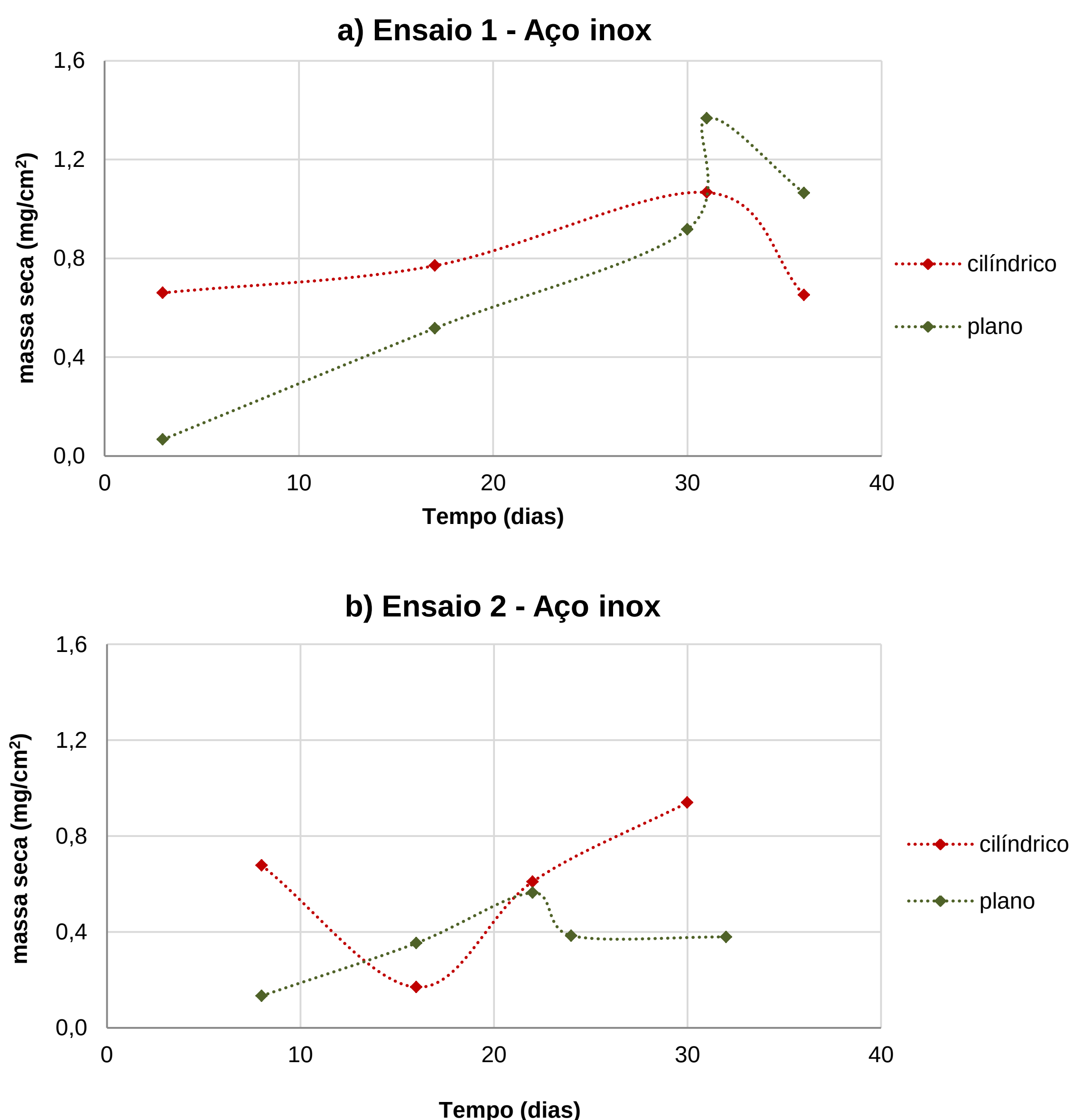


Figura 35 – Massas secas de biofilme aderido nos *coupons* de aço inox, cilíndricos e planos, por unidade de área superficial: a) ensaio 1, b) ensaio 2.

Na Figura 35 a), verifica-se que no ensaio 1 as massas secas de biofilme aderido por unidade de área superficial do aço inox é semelhante nos *coupons* cilíndricos e planos apesar das condições operatórias serem diferentes. Verifica-se que até ao dia 30, o crescimento de biofilme foi favorecido nos *coupons* cilíndricos, o que pode dever-se não só à geometria do *coupon*, mas também à temperatura e velocidade média superiores do fluido teste nas tubagens onde os *coupons* cilíndricos se encontravam. A partir do dia 30, a massa seca de biofilme foi maior nos *coupons* planos.

No ensaio 2, Figura 35 b), as massas de biofilme aderido nos *coupons* cilíndricos e planos de aço inox por unidade de área superficial, não seguiram tendências semelhantes às do ensaio 1. Nas

fases inicial e final, os *coupons* cilíndricos, inseridos nas tubagens e portanto sujeitos a temperaturas e velocidades médias mais elevadas, apresentaram uma maior massa de biofilme aderido.

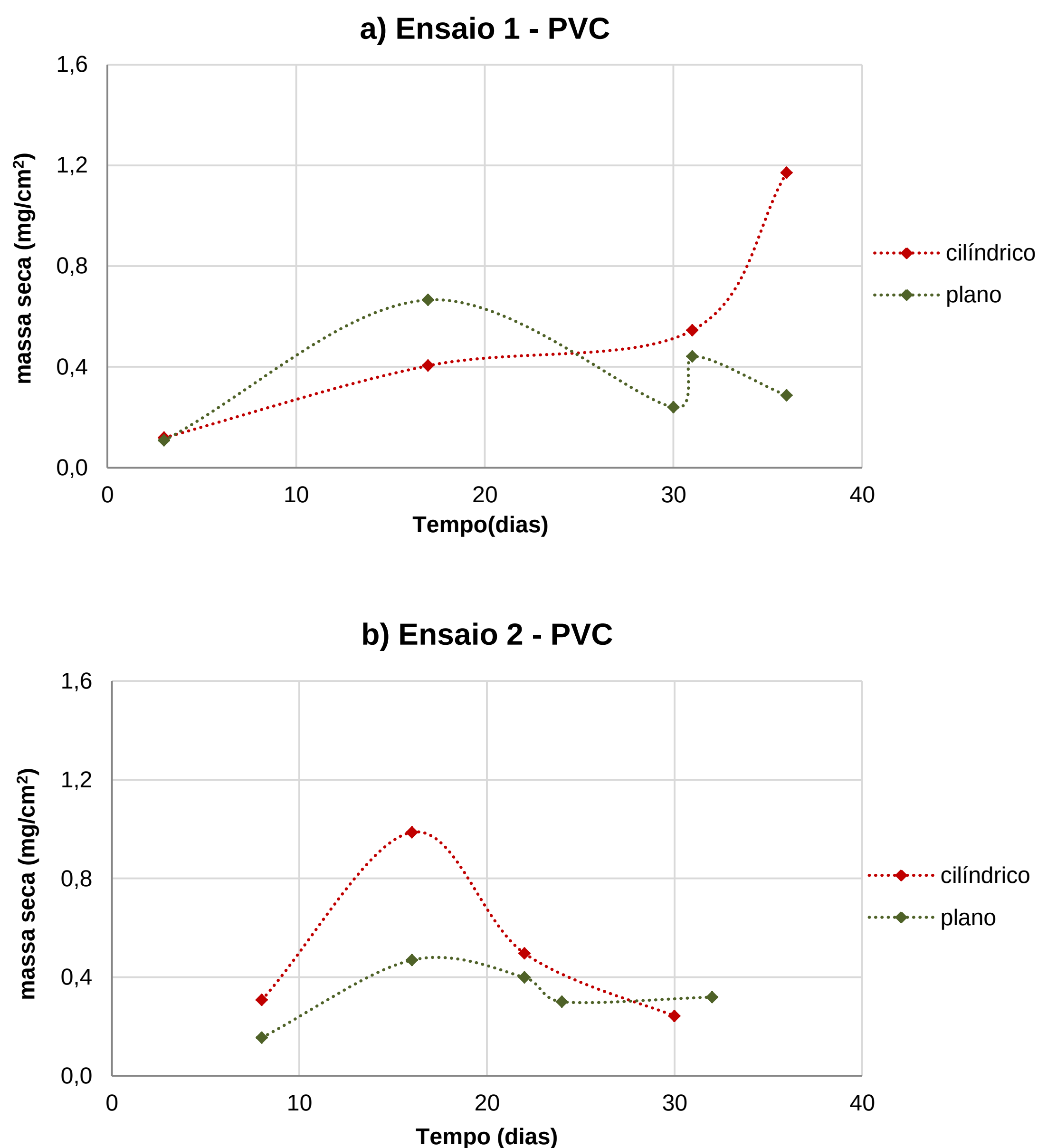


Figura 36 – Massas secas de biofilme aderido nos *coupons* de PVC, cilíndricos e planos, por unidade de área superficial: a) ensaio 1, b) ensaio 2.

Na Figura 36 a), observou-se que até ao dia 25 foi favorecida a adesão e o crescimento de biofilme nos *coupons* planos, enquanto que a partir do dia 23 a massa seca de biofilme foi maior nos *coupons* cilíndricos, sujeitos a uma temperatura e velocidade média superiores nas tubagens onde estavam inseridos.

A tendência das massas de biofilme aderido nos *coupons* de PVC no ensaio 2 (Figura 36 b)), foi distinta da do ensaio 1, sendo a adesão e o crescimento de biofilme favorecidos pelos *coupons* de PVC cilíndricos, sujeitos a temperaturas e velocidades médias superiores.

Em geral, os *coupons* cilíndricos, promoveram uma adesão e crescimento de biofilme maior e portanto uma detecção de *biofouling* mais eficaz. Todavia, não se pode atribuir este benefício unicamente à geometria dos *coupons* cilíndricos dado a temperatura e a velocidade média nas tubagens onde estes estavam inseridos serem superiores às do aquário (onde os *coupons* planos se encontravam) favorecendo também esse fenómeno.

5.2.4. Remoção de biofilme nos tubos sensores DSS (CIP)

No final de cada ensaio de adesão de biofilme nos tubos sensores DSS, procedeu-se à limpeza, *Cleaning in Place* (CIP), cujo procedimento foi descrito na secção 4.2.7. Estas limpezas testaram a capacidade de resposta de cada material, utilizado como tubo sensor, para a remoção de biofilme aderido nos ensaios 1 e 2.

Na Figura 37, apresenta-se a evolução das amplitudes de vibração, normalizadas e corrigidas a 25˚C, durante e após a CIP para o tubo sensor DSS em aço inox, em função do tempo.

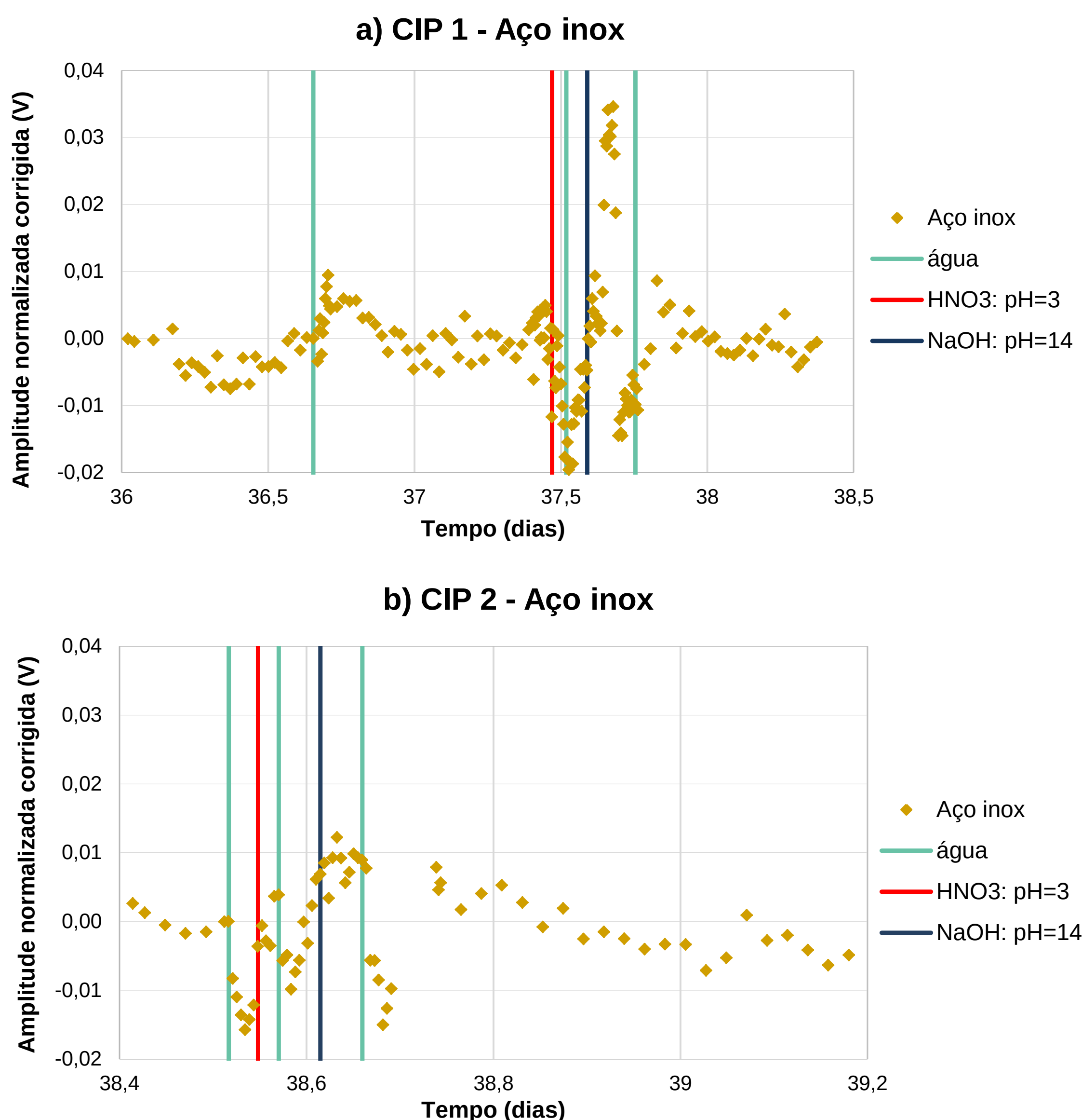


Figura 37 – *Cleaning in Place* para o tubo sensor DSS de aço inox: após ensaio 1 (CIP 1), após ensaio 2 (CIP 2).

No ensaio CIP 1 (Figura 37 a)) notou-se que sempre que se trocaram os fluidos de limpeza, a amplitude de vibração sofreu grandes variações. Durante a terceira lavagem com água, observou-se um período de estabilização e o sinal obtido acabou por tender para zero, indicando o final da limpeza CIP 1.

No ensaio CIP 2 (Figura 37 b)), ocorreram também variações das amplitudes de vibração do tubo sensor de aço inox a seguir a cada troca dos fluidos de limpeza. No entanto, as variações da amplitude de vibração foram mais suaves na CIP 2 do que na CIP 1, muito provavelmente devido às menores massas de biofilme aderidas aos tubos sensores DSS no ensaio 2, cujo fluido teste era menos contaminado. Tal como na CIP 1, foi identificado o final da limpeza CIP 2 pela anulação do sinal.

Para uma visualização da eficácia da limpeza, apresentam-se as imagens relativas à saída do tubo sensor em aço inox, antes e após a limpeza CIP 1 na Figura 38.



Figura 38 – Tubo cristal à saída do tubo sensor DSS de aço inox: a) antes da CIP 1, b) após a CIP 1.

Na Figura 39, apresenta-se a evolução das amplitudes de vibração registadas durante e após a CIP para o tubo sensor DSS em PVC, em função do tempo.

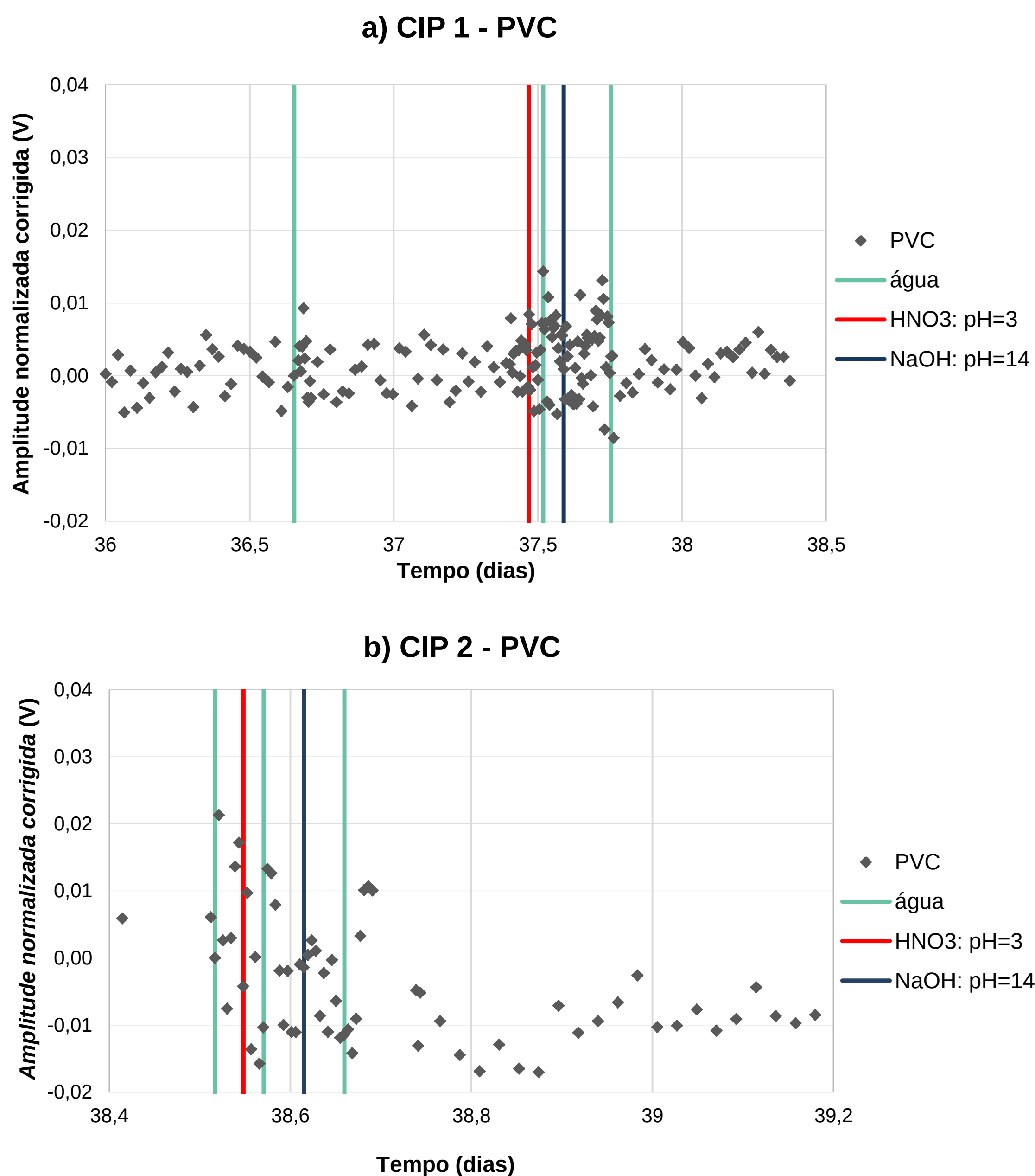


Figura 39 – *Cleaning in Place* para o tubo sensor DSS de PVC: após ensaio 1 (CIP 1), após ensaio 2 (CIP 2).

Tal como no tubo sensor de aço inox, o tubo sensor de PVC registou variações bruscas das amplitudes de vibração sempre que se efectuou a troca dos fluidos de limpeza. Contrariamente ao aço inox, a dispersão da amplitude de vibração no tubo sensor de PVC foi superior na CIP 2. O final da limpeza foi igualmente identificado pela anulação do sinal na terceira lavagem com água (Figura 39 a) e b)).

Para uma visualização da eficácia da limpeza, apresentam-se as imagens relativas à saída do tubo sensor DSS de PVC antes e depois da CIP 1 na Figura 40.



Figura 40 – Tubo cristal à saída do tubo sensor DSS de PVC: a) antes da CIP 1, b) após a CIP 1.

No procedimento CIP ocorreram variações acentuadas nas amplitudes de vibração dos tubos sensores DSS em cada troca dos fluidos de limpeza, o que pode ter sido devido a:

1) Entrada de ar simultânea com os fluidos de limpeza (água da rede, solução ácida (HNO_3) e solução básica (NaOH);
2) Formação de microbolhas ao adicionar-se a solução ácida (fenómeno inevitável);
3) *Biofouling swelling,* ou seja, o biofilme incha e contrai-se ao ser sujeito a condições operatórias severas.[48]

Na Tabela 10, apresentam-se as amplitudes de vibração normalizadas corrigidas a 25°C, dos tubos sensores DSS de aço inox e de PVC imediatamente antes e após as limpezas CIP 1 e CIP 2.

Tabela 10 – Amplitudes antes e após a CIP para cada ensaio e tubo sensor DSS.

Amplitude normalizada corrigida (V)	**CIP 1**		**CIP 2**	
	Sensor de aço inox	**Sensor de PVC**	**Sensor de aço inox**	**Sensor de PVC**
Antes CIP	$7{,}21 \times 10^{-4}$	$4{,}66 \times 10^{-3}$	$2{,}58 \times 10^{-3}$	$5{,}92 \times 10^{-3}$
Após CIP	0[a]	$3{,}79 \times 10^{-3}$	0[a]	0[a]

Conclui-se que em qualquer dos ensaios, CIP 1 e CIP 2, ambos os tubos sensores DSS, de aço inoxidável e de PVC, permitem detectar qualquer interferência no sistema, em particular identificar a remoção de biofilme e o final da limpeza.

[a] Após as CIPs, as amplitudes de vibração apresentaram valores relativamente pequenos mas negativos (Figura 37e Figura 39), ou seja, sem significado físico. Daí que tenham sido aproximadas a zero na Tabela 10.

5.3. Factores relevantes na selecção de materiais para detecção de *biofouling*

De acordo com a literatura consultada, concluiu-se que não existe consenso sobre a influência das superfícies dos materiais na adesão e crescimento de biofilme, referindo-se tendências díspares para metais (cobre e aço inoxidável) e polímeros (HDPE, PVC e PE).[33][34][35][36][37][38]

Para além das condições do meio envolvente, por exemplo, as concentrações de oxigénio e nutrientes, o pH, a temperatura e a exposição solar, são também mencionados outros factores relevantes na adesão de biofilmes em superfícies, nomeadamente, a composição química do material, a carga eléctrica superficial, a hidrofobicidade do material e dos microrganismos e ainda a rugosidade e tensões de corte na superfície do material.[30][31][32]

Dada a inexistência da caracterização do fluido teste no ensaio 2 e o comportamento irregular deste último, optou-se por considerar nesta secção apenas os resultados experimentais do ensaio 1.

Nos ensaios de adesão de biofilme nos *coupons* cilíndricos, constatou-se que os de aço inoxidável favoreceram a adesão e proliferação de biofilme em relação aos do PVC (Figura 31 a)), isto é, $m_{\text{aço inox}} > m_{\text{PVC}}$. Por outro lado, observou-se que esta ordem coincide com a das tensões de corte na superfície dos materiais, ou seja, $\tau_{o,\text{aço inox}} > \tau_{o,\text{PVC}}$ (Tabela 9), sendo estes resultados concordantes com os obtidos por Donlan e Costerton.[32] Apesar da tensão de corte no *coupon* de aço inox ser unicamente 22 % superior à do *coupon* de PVC, as massas de biofilme aderido nos *coupons* cilíndricos de aço inox são cerca do dobro das dos *coupons* de PVC.

Assim, conclui-se que a tensão de corte (que inclui a rugosidade relativa, o diâmetro dos *coupons* e a velocidade transversal média) é muito provavelmente o factor mais relevante na selecção de materiais tubulares para a detecção de *biofouling* em condutas.

Relativamente aos *coupons* planos, a ordem das massas de biofilme aderido foi: $m_{\text{neoprene}} >> m_{\text{aço inox}} > m_{\text{PVC}} \approx m_{\text{HDPE}} > m_{\text{cobre}}$, (Figura 33 a) e Figura 34 a)).

O neoprene apresentou massas de biofilme aderido uma ordem de grandeza superior às dos restantes materiais. Este facto era expectável da Microscopia Electrónica de Varrimento (Figura 20), em que se observaram na superfície deste material inúmeras irregularidades, que constituem sítios preferenciais para a adesão dos microrganismos.[30]

Por sua vez, o aço inox apresentou uma massa de biofilme aderido significativa, muito provavelmente por ser o material com a rugosidade absoluta mais elevada, 45 μm, isto é, 30 vezes

superior face aos restantes materiais (PVC, HDPE e cobre) cuja rugosidade absoluta é 1,5 μm.[46] Este facto foi corroborado pelas imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Figura 17, Figura 18, Figura 19 e Figura 21), com excepção do cobre o qual será discutido posteriormente, e igualmente observado por Niquette et al.[33].

Os *coupons* planos em HDPE e PVC, com rugosidades absolutas iguais e ângulos de contacto idênticos, 68º e 67º, respectivamente, apresentaram massas de biofilme aderido deveras semelhantes (Figura 34 a)).

Quanto ao cobre, era expectável uma elevada massa de biofilme aderido por duas razões distintas, nomeadamente: tratava-se do material mais hidrofóbico (ângulo de contacto = 84º), o que favoreceria a adesão de microrganismos; e nas imagens de Microscopia Electrónica de Varrimento (Figura 17), observou-se uma elevada rugosidade efectiva devida eventualmente a biofilme aderido. Contudo, as massas de biofilme aderido nos *coupons* planos de cobre foram as mais baixas (Figura 34 a)), talvez devido ao efeito bactericida do cobre[38] e/ou à lavagem e secagens (ver secção 4.2.8.1) deficientes dos cupões de cobre depois dos ensaios de adesão de biofilme. No entanto, os resultados aparentemente inesperados do cobre são análogos aos mencionados por Lehtola et al.[36] e Schwatrz et al.[37].

Conclui-se que a rugosidade efectiva e a hidrofobicidade são provavelmente os factores mais relevantes na selecção de materiais planos para a detecção de *biofouling* num processo industrial, à semelhança do referido por Grenho[30] dado que a ordem das massas de biofilme aderido nos *coupons* planos baseada unicamente nestes dois factores seria $m_{\text{neoprene}} >> m_{\text{cobre}} \approx m_{\text{aço inox}} > m_{\text{PVC}} \approx m_{\text{HDPE}}$, o que correspondeu à realidade, com excepção do cobre.

6. Conclusões e Trabalho Futuro

De maneira a avaliar precocemente a formação de *biofouling*, antes de este ter impacto ao nível do processo, foram estudados diferentes materiais com o objectivo de determinar os que favorecem a formação de *biofouling*. Por um lado testaram-se *coupons* planos que possam constituir uma alternativa aos *biocoupons* comercialmente disponíveis, mas muito dispendiosos. E em paralelo, foi também utilizado o sistema *Diveil Surface Sensor* (DSS) para a avaliação *online* e em tempo real a formação ou remoção de depósitos em dois materiais diferentes, e assim determinar comparativamente se algum deles favorece a formação de *biofouling*.

Foram efectuados dois ensaios de adesão/remoção de biofilme em tubos sensores DSS e em *coupons* cilíndricos de aço inox e de PVC e ainda em *coupons* planos de cobre, aço inox, HDPE, PVC e neoprene. Para avaliar as características que afectam a adesão de biofilme, estes materiais foram caracterizados por Microscopia Electrónica de Varrimento, Tomografia Computadorizada de Raios-X, Porosimetria Gasosa e Goniometria. O ensaio 2 apresentou um comportamento irregular relativamente a certos itens.

Relativamente às massas observadas nos *coupons* planos desenvolvidos para a detecção de *biofouling*, verificou-se que: $m_{\text{neoprene}} >> m_{\text{aço inox}} > m_{\text{PVC}} \approx m_{\text{HDPE}} > m_{\text{cobre}}$, isto é, o neoprene foi o material onde a adesão de biofilme foi superior. Todavia, o aço inox também apresentou respostas significativas em tempo útil para o mesmo propósito. Os *coupons* planos poliméricos de HDPE e de PVC apresentaram uma adesão diminuta de biofilme. Contudo, visto que os poliméricos não sofrem corrosão seriam os mais adequados a nível industrial. O cobre foi o material que apresentou menor massa de biofilme aderido, daí que não seja recomendável para este fim. A rugosidade efectiva e a hidrofobicidade são provavelmente os factores mais relevantes a ter em conta para a selecção de materiais planos para a detecção de *biofouling*.

As amplitudes de vibração nos tubos sensores DSS de aço inoxidável e de PVC revelaram que estes materiais são adequados à detecção da adesão/remoção de biofilme, sendo o de aço inox o material no qual o biofilme parece ter maior afinidade. Chegou-se à mesma conclusão para os *coupons* cilíndricos dos mesmos materiais e diâmetros dos tubos sensores, na medida em que o aço inox aderiu uma maior massa de biofilme mais rapidamente, $m_{\text{aço inox}} > m_{\text{PVC}}$. A adesão preferencial de biofilme no aço inox parece dever-se à tensão de corte que é mais elevada no *coupon* cilíndrico e no tubo sensor de aço inox do que nos correspondentes de PVC.

O quociente entre os declives das correlações das amplitudes de vibração dos tubos sensores DSS de aço inox e de PVC em função das massas de biofilme aderido nos *coupons* cilíndricos correspondentes é praticamente unitário em ambos os ensaios, relevando a existência de uma relação linear única, independente do material.

Em geral, os *coupons* cilíndricos promoveram uma adesão e crescimento de biofilme superior à dos *coupons* planos do mesmo material e portanto uma detecção de *biofouling* mais eficaz. Todavia, não é possível atribuir este facto unicamente à geometria cilíndrica dado que a temperatura e a velocidade média transversal nas tubagens eram superiores às do aquário, favorecendo também esse fenómeno.

A limpeza da instalação experimental consistiu em lavagens sucessivas com uma solução de HNO_3 a pH 3 (para dissolução de incrustações) e uma solução de NaOH a pH 14 (para a remoção do biofilme), intercaladas com lavagens de água. A amplitude de vibração nos tubos sensores DSS sofreu dispersões elevadas em cada troca dos fluidos de limpeza, estabilizando e anulando-se finalmente na terceira lavagem com a água.

Com os resultados obtidos neste trabalho, a Enkrott S. A. Proporcionará decerto um controlo mais eficaz em sistemas de águas de refrigeração.

Como perspectivas de trabalho futuro, sugere-se a repetição deste trabalho, com algumas alterações nos protocolos seguidos, de forma a minimizar os erros experimentais e as incertezas, nomeadamente:

1. Caracterização dos materiais antes e depois dos ensaios de adesão de biofilme para analisar eventuais mudanças nas suas superfícies;
2. Caracterização química (matéria orgânica e inorgânica) e microbiológica da água;
3. Utilização de *coupons* virgens e em número suficiente para se efectuar uma média das massas de biofilme aderido;
4. Pesagem dos *coupons* antes dos ensaios e após serem removidos e secos;
5. Análises químicas e biológicas dos depósitos aderidos nos *coupons* cilíndricos e planos, para determinar a sua natureza.

7. Bibliografia

[1] http://www.enkrott.pt/index.php/en/, acedido a 18 de Maio de 2014;

[2] http://aquavalens.org/partners/a-i, acedido a 09 de Agosto de 2013;

[3] http://www.enkrottquimica.com, acedido a 09 de Agosto de 2013;

[4] Nalco Company; "*The Nalco Water Handbook*"; 2nd Ed, McGraw-Hill, USA (1988);

[5] T. R. Bott, *"Techniques for reducing the amount of biocide necessary to counteract the effects of biofilm growth in cooling water systems"*, Applied Thermal Engineering 18 (1988), 1059 – 1066;

[6] Norberta de Pinho e Duarte Miguel Prazeres, "*Fundamentos de Transferência de Massa"*, IST Press, Lisboa, Portugal (2008);

[7] http://www.gea-energytechnology.com/opencms/opencms/pcl/en/CoolingTowers/Models/GEA-CT.html, acedido a 26 de Maio de 2014

[8] http://www.ebah.com.br/content/ABAAAASWMAD/torre-resfriamento-aula, acedido a 15 de Novembro de 2013;

[9] http://www.gewater.com/handbook/cooling_water_systems/index.jsp, acedido a 03 de Julho de 2013;

[10] http://www.gc3.com/Default.aspx?tabid=90, acedido a 16 de Julho de 2013;

[11] http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i005841.pdf, acedido a 16 de Julho de 2013;

[12] http://www.nalco.com/documents/Brochures/B-34.pdf, acedido a 16 de Julho de 2013;

[13] J. Walters, D. Duke, *"Effective use of Recycled Water in Cooling Towers with new Green Technology",* West Basin Municipal Water District, Carson CA; Water Conservation Technology International, Temecula CA (2009);

[14] http://web.ist.utl.pt/luis.roriz/MyPage/et_T01.htm, acedido a 08 de Julho de 2013;

[15] A. Ketsetzi, A. Stathoulopoulou, K. D. Demadis, *"Being "green" in chemical water treatment technologies: issues, challenges and developments"*, Desalination, 223 (2008) 487 – 493;

[16] www.epa.gov, acedido a 18 de Julho de 2013;

[17] Z. H. Liang, W. L. Min, L. Wei, *"Corrosion on-line monitoring technology of circulation cooling water systems"*, Power and Energy Conference (APPEEC) ,Beijing, China (2012) 1 – 3;

[18] C. Boxler, F. Kaup, R. Teixeira, A. Pereira, J. Mendes, L. F. Melo, W. Augustin, S. Scholl, *"On-line Monitoring of Deposition and Removal of Milk Salts on Coated Surfaces",* Proceedings of International Conference on Heat Exchanger Fouling and Cleaning, Creta, Grécia (Junho de 2011) 414 – 420;

[19] http://www.microbmonitor.com/shop/MicrobMonitor_Dip_Slides/1,6,0,0/default.aspx, acedido a 06 de Junho de 2014;

[20] D. Ivnitski, I. Abdel-Hamid, P. Atanasov, E. Wilkins, *"Biosensors for detection of pathogenic bacteria",* Biosensors & Bioelectronics 14 (1999) 599 – 624;

[21] http://www.alspi.com/BKFTemp/scale-bio.htm, acedido a 06 de Junho de 2014;

[22] A. Samimi, *"Micro-Organisms of Cooling Tower Problems and How to Manage Them"*, International Journal of Basic and Applied Science 1(4) (2013) 705 – 715;

[23] W. G. Characklis, *"Fouling Biofilm Development: A Process Analysis",* Biotechnology and Bioengineering 23 (1981) 1923 – 1960;

[24] M. T. S. Lutterbach, F. P. França, *"Biofilm formation in water cooling systems"*, World Journal of Microbiology & Biotechnology 12 (1996) 391 – 394;

[25] M. C. Kasnowski, S. P. S. Mantilla, L. A. T. Oliveira, R. M. Franco, *"Formação de Biofilme na Indústria de Alimentos e Métodos de Validação de Superfícies",* Revista Científica Electrónica de Medicina Veterinária 15 (Julho de 2010);

[26] L. Lasa, J. L. del Pozo, J. R. Penadés, J. Leiva, *"Bacterial Biofilms and Infection"*, Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 28(2) (2005) 163 – 175;

[27] http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=354&ordem=1, acedido a 18 de Maio de 2014;

[28] W. Guo, H. Ngo, J. Li, *"A mini-review on membrane fouling"*, Bioresource Technology, 122 (2012) 27 – 34;

[29] Ivnitsky, H., Katz, I., Minz, D., Shimoni, E., Chen, Y., Tarchitzky, J. Semiat, R., Dosoretz, C. G., *"Characterization of membrane biofouling in nanofiltration processes of wastewater treatment"*, Desalination,185 (2005) 255 – 268;

[30] L. C. S. Grenho, *"Estudo da Adesão Bacteriana a Biomateriais Nanofásicos",* Dissertação de Mestrado, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal (2010);

[31] R. M. Donlan, *"Biofilms: Microbial Life on Surfaces",* Emerging Infectious Diseases 8(9) (2002) 881 – 890;

[32] R. M. Donlan, J. W. Costerton, *"Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms",* Clinical Microbiology Reviews 15(2) (2002) 167 – 193;

[33] P. Niquette, P. Servais, R. Savoir, *"Impacts of Pipe Materials on Densities of Fixed Bacterial Biomass in a Drinking Water Distribution System",* Water Research 34(6) (2000) 1952 – 1956;

[34] N. B. Hallam, J. R. West, C. F. Forster, J. Simms, *"The Potential for Biofilm Growth in Water Distribution Systems",* Water Research, 35(17) (2001) 4063 – 4071;

[35] T. E. Cloete, D. Westaard, S. J. van Vuuren, *"Dynamic response of biofilm to pipe surface and fluid velocity",* Water Science and Technology 47(5) (2003) 57 – 59;

[36] M. J. Lehtola, I. T. Miettinen, M. M. Keinänen, T. K. Kekki, O. Laine, A. Hirvonen, T. Vartiainen, P. J. Martikainen, *"Microbiology, Chemistry and Biofilm Development in a Pilot Drinking Water Distribution System with Copper and Plastic Pipes",* Water Research 38 (2004) 3769 – 3779;

[37] T. Schwartz, H. Sandra, U. Obst, *"Formation and bacterial composition of young, natural biofilms obtained from public bank-filtered drinking water system",* Water Research 38(9) (1998) 2787 – 2797;

[38] G. Grass, C. Rensing, M. Solioz, *"Metallic Copper as an Antimicrobial Surface"*, Applied and Environmental Microbiology 77(5) (2011) 1541 – 1547;

[39] A. A. S. Pereira, *"On-line Monitoring of Deposits Formation and Removal on Solid Surfaces Using Vibration Techniques",* Dissertação de Doutoramento em Engenharia Química e Biológica, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal (2008);

[40] A. Pereira, R. Rosmaninho, J. Mendes, L. F. Melo, *“Monitoring Deposit Build-Up Using a Novel Mechatronic Surface Sensor (MSS)”,* Food and Bioproducts Processing 84(C4) (2006) 366 - 370;

[41] K. M. Nemati, *“Fracture Analysis of Concrete Using Scannig Electron Microscopy”*, Scanning 19 (1997) 426 – 430;

[42] D. C. B. Silva, C. R. Baldo, *“Análise de Materiais em Dimensionamento de Peças Metálicas Utilizando Tomografia Computadorizada de Raios X”,* Congresso da Qualidade em Metrologia (Agosto de 2013);

[43] Lopes, J. M., “Preparação, Caracterização e Desactivação de Catalisadores”, Engenharia de Reacções II, Instituto Superior Técnico, Lisboa, Portugal (2013 – 2014);

[44] M. P. Coutinho, *“Influência da Morfologia da Superfície na Molhabilidade do Titânio Comercialmente Puro”*, Dissertação de Mestrado, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, Brasil (2007);

[45] J. Restolho, J. L. Mata, B. Saramago, *“On the Interfacial Behavior of Ionic Liquids: Surface Tensions and Contact Angles”,* Journal of Colloid and Interface Science 340 (2009) 82 – 86;

[46] J. Chaurette, *“Fluide Design – Pipe Roughness Values”*, Fluide Design Inc.(2003);

[47] R. H. Perry, *“Perry’s Chemical Engineers’ Handbook”,* 7th Ed, McGraw-Hill, USA (1997);

[48] N. G. Cogan, J. P. Keener, *“The Role of the Biofilm Matrix in Structural Development”*, Mathematics Medicine and Biology 21(2) (2004), 147 – 166.

Anexos

1. Análise do fluido teste

1.1. Análise do fluido teste antes do Ensaio 1



LAIST
LABORATÓRIO
DE ANÁLISES DO IST
TÉCNICO LISBOA

Av. Rovisco Pais - 1049-001 Lisboa
Tel: 21.8417954 Fax:21.8417952 email: Labanalises@ist.utl.pt
NIF: 501507930 http://la.ist.utl.pt/

Boletim de Análise
Nº 05152-14

Versão 1 - Anula e substitui todas as anteriores.

Cliente:
Enkrott Quimica, SA
Abrunheira Park - Estrada Nacional 249 - Km 4
Fracção Y
2710-162 Sintra

Análise Bacteriológica de Água

Requisição nº 00709 **de** 2014-02-19
Início da Análise em: 2014-02-19
Conclusão da Análise em: 2014-04-09

Dados da Amostra

Origem: Req. 130521 - 20591

Matriz: Água de Processo

Colheita

Colhida por: Cliente
Ponto de Colheita:
Efectuada em: 2014-02-18

Obs: ---

Rótulo: Torre da Fábrica

Resultados

Parâmetro	Resultado	Método
Microorganismos viáveis a 30ºC/120 h	2,00E+8 UFC / 100 ml	Membrana Filtrante

Observações

Caracterização da amostra: 20% de coccus positivos e 80% de bacillus negativos.

Lisboa, 2014-04-28

O Laboratório de Análises

Ricardo Santos
(Responsável de Núcleo)

1.2. Análise do fluido teste depois do Ensaio 1



LAIST
LABORATÓRIO DE ANÁLISES DO IST
TÉCNICO LISBOA

Av. Rovisco Pais - 1049-001 Lisboa
Tel: 21.8417954 Fax:21.8417952 email: LabAnalises@ist.utl.pt
NIF: 501507930 http://la.ist.utl.pt/

Boletim de Análise
Nº 08348-14



Cliente:
Enkrott Quimica, SA
Abrunheira Park - Estrada Nacional 249 - Km 4
Fracção Y
2710-162 Sintra

Análise Bacteriológica de Água

Requisição nº 01252 de 2014-03-26
Início da Análise em: 2014-03-26
Conclusão da Análise em: 2014-04-09

Dados da Amostra

Origem: Req. 130556 - 20591

Matriz: Água de Processo

Colheita

Colhida por: Cliente
Ponto de Colheita:
Efectuada em:

Obs: ---

Rótulo: Torre da Fábrica

Resultados

Parâmetro	Resultado	Método
Microorganismos viáveis a 30ºC/120 h	6,69E+7 UFC / 100 ml	Membrana Filtrante

Observações

Caracterização da amostra: 23,9% de coccus positivos e 76,1% de bacillus negativos.

Lisboa, 2014-04-28

O Laboratório de Análises

Ricardo Santos
(Responsável de Núcleo)